FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE
CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

147. BAND

VIERTES HEFT

MIT 13 ABBILDUNGEN IM TEXT

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

J. F. BERGMANN · MÜNCHEN

1955

Z.anal. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie.

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*.

Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 40535

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24
Fernsprecher 2440
Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 249251

Band 147 — Heft 4

Inhaltsverzeichnis.

Originalabhandlungen.

Seite

Sommer, G., Studien zur anorganischen Papierchromatographie. 1. Mitt. Die Wanderungsverhältnisse der Kationen bei der Papierchromatographie unter verschiedenen Bedingungen. Mit 8 Textabbildungen 241

Schulte, K. E., und **H. M.. Krüger,** Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung von Capsaicin in Drogen. Mit 3 Textabbildungen 266

Deshmukh, G. S., and **M. G. Bapat,** Application of the Two Stage Ascorbic Acid-Iodate Titration to the Determination of Iodine and Iodide . . . 271

Bhaskara Rao, K., and **G. Gopala Rao.** Cerimetric Estimation of Phosphite: Silver Salt Catalysis. 274

Bhaskara Rao, K., and **G. Gopala Rao,** Cerimetric Estimation of Hypophosphite: Silver Salt Catalysis. 279

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus der Chemischen Abteilung des Balneologischen Institutes bei der Universität München (Vorstand: Prof. S. W. Soucı).

Studien zur anorganischen Papierchromatographie.

1. Mitteilung.

Die Wanderungsverhältnisse der Kationen bei der Papierchromatographie unter verschiedenen Bedingungen.

Von

G. Sommer

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Mai 1955.)

Die Entwicklung der anorganischen Analytik ist gekennzeichnet durch die Worte: „Einfacher, schneller, empfindlicher." Aus dieser Zielsetzung hat sich — da die drei Begriffe meist nicht zu vereinen sind — eine weitgehende Aufteilung in Arbeitsrichtungen ergeben. In den letzten Jahrzehnten sind so auf vielen Spezialgebieten große Erfolge erzielt worden. Sie dürfen jedoch nicht darüber hinwegtäuschen, daß die anorganische Gesamtanalyse auf der Stufe der klassischen Analysengänge stehengeblieben ist. Verschiedentlichen Ansätzen zu einer Modernisierung bzw. Umgestaltung blieb eine breitere Anerkennung versagt. Es erscheint jedoch angebracht, erneut zu prüfen, ob heute nicht vieles vereinfacht und verbessert werden kann. Eine Möglichkeit hierzu scheint die Papierchromatographie zu bieten, die ihre Eignung zur Lösung analytischer Probleme in den letzten Jahren vielfach bewiesen hat[3, 6, 16].

Bei den Versuchen, diese elegante Methode zur Durchführung von Gesamtanalysen heranzuziehen, zeichnen sich gegenwärtig drei Entwicklungsrichtungen ab:

Am häufigsten werden in üblicher Weise erst die verschiedenen Gruppen ausgefällt und diese dann anschließend papierchromatographisch weiter aufgeteilt. Dieser Weg hat den Vorzug, daß in jedem Abschnitt nur eine verhältnismäßig geringe Anzahl von Ionen anfällt. Allerdings sind für die Kationen zumindest drei Chromatogramme, eines für die Schwefelwasserstoffgruppe, eines für die Ammoniumsulfidgruppe und eines für die vereinigte Erdalkali- und Alkaligruppe erforderlich.

Auf jede Bindung an dieses alte Aufteilungsprinzip verzichten zwei Methoden[17, 18], die in ihren Grundzügen kurz umrissen sein sollen:

Im ersten Fall werden viele Chromatogramme mit ein und demselben Lösungsmittel hergestellt. Die Ermittlung der einzelnen Bestandteile erfolgt durch Sprühen mit einer Reihe von Gruppenreagentien und

schließlich noch durch selektive Reaktionen. Bei verhältnismäßig geringer Aufteilung des Substanzgemisches liegt das Hauptgewicht also auf der Auswahl der geeigneten Sprühmittel.

Bei der anderen Methode wird mit drei verschiedenen Lösungsmitteln jeweils ein Chromatogramm angefertigt. Die Sprühmittel dienen mehr oder weniger lediglich zum Sichtbarmachen der Flecke. Die Identifizierung geschieht weitgehend an Hand der R_f-Werte, die ein Ion mit den verschiedenen Lösungsmitteln ergibt. Zum Ausgleich der kaum vermeidbaren Schwankungen der Wanderungswege wird auf mitlaufende Vergleichssubstanzen bezogen.

Anlaß zu eigenen Versuchen war der Wunsch, mittels der Papierchromatographie einen schnellen Überblick über Art und ungefähre Menge von Mineralstoffen in Wässern und Aschen von Bodenproben zu gewinnen. Bei der Ausarbeitung des Verfahrens wurde besonderer Wert darauf gelegt, daß die in den Untersuchungssubstanzen wechselnd vorhandenen Anionen sich nicht störend auf die Trennungen der in recht unterschiedlichen Mengen anwesenden Kationen auswirkten[2, 24]. Bekanntlich ist bei den bisher bekanntgewordenen Verfahren[1, 4, 8, 15] immer ein bestimmtes Anion — bei Ausschluß aller übrigen — vorgeschrieben. Die Erfüllung dieser Forderung verlangt oft zeitraubende Vorarbeiten, die jeden Gewinn in Frage stellen.

Die Wahl eines geeigneten Lösungsmittels für die Papierchromatographie erfolgt fast immer empirisch, da selten theoretische Anhaltspunkte gegeben sind. Zudem sind systematische Arbeiten über den Einfluß von Lösungsmittelbestandteilen auf die Ausbildung und die R_f-Werte der Flecken ob ihres Umfanges nicht sehr beliebt und deshalb in der einschlägigen Literatur nur spärlich anzutreffen. Es erscheint deshalb angebracht, zunächst die Ergebnisse einer Reihe von Versuchen bekanntzugeben, die dem Studium der Wanderungsverhältnisse der Kationen unter verschiedenen Bedingungen gewidmet waren. Ein Bericht über die analytische Auswertung wird in Kürze folgen.

Experimenteller Teil.

Den Ausgangspunkt bildete ein in Vorversuchen ermitteltes Lösungsmittelgemisch aus Methanol, Salzsäure und Wasser. Die Chromatogramme wurden im aufsteigenden Verfahren entwickelt und zwar eine Versuchsreihe immer zur selben Zeit und unter genau gleichen Bedingungen. Die Entwicklungsgefäße mit den verschiedenen Lösungsmitteln waren hierzu in einem großen — außer Betrieb befindlichen — Trockenschrank untergebracht, um störende äußere Einflüsse nach Möglichkeit auszuschalten.

Als Entwicklungsgefäße bewährten sich wiederum[28] Weckgläser von 5 l Inhalt. Bei einer oberen lichten Weite von 14,5 cm weisen sie eine nutzbare Höhe von gut

25 cm auf. Die Gläser wurden jeweils direkt mit 100 ml Lösungsmittel beschickt und dann zur Sättigung der Gasphase 3 Std stehen gelassen.

Wenn nicht anders vermerkt, kam Papier Sch. & Sch. Nr. 2043b zur Anwendung. Die Bögen wurden auf eine Größe von 30 × 25 cm zugeschnitten. Die Benutzung von Metallklammern zum Fixieren der gebildeten Papierzylinder ist in sauren Lösungsmitteln unangebracht, die von Bindfaden sehr umständlich. Ausgezeichnet bewährt haben sich kleine Polyäthylenscheibchen, die sich leicht aus irgendwelchen Resten bei höheren Temperaturen formen lassen (Abb. 1). Die Kanten des Papiers werden in die etwas auseinandergebogenen seitlichen Schlitze eingeklemmt.

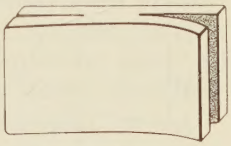


Abb. 1. Polyäthylenscheibchen.

Die Stammlösungen enthielten 1% Metall in 2 n Salzsäure. Die verwendeten Lösungen waren meist mit 2 n Salzsäure auf das Zehnfache verdünnt. Ein Tropfen (0,03 ml) davon entsprach rund 30 μg Metall.

Die Lösungen wurden in einer Entfernung von 2,5 cm vom unteren Rand und einem gegenseitigen Abstand von 2 cm auf den Papierbogen aufgetragen. Nach vollständigem Eintrocknen der Tropfen kam der zum Zylinder geformte Bogen in das Entwicklungsgefäß und verblieb darin, bis die Lösungsmittelfront 20,5 cm hoch gestiegen war. Diese Höhe wurde im allgemeinen nach etwa 3 Std erreicht. Der bei Zimmertemperatur getrocknete Bogen wurde nach entsprechendem Abdecken streifenweise mit den geeigneten Reagentien (vgl. S. 260) zum Sichtbarmachen der Flecke besprüht.

1. Der Einfluß der Methanolkonzentration.

Die Verwendung niederer Alkohole als organischem Lösungsmittelanteil ist in verschiedener Hinsicht vorteilhaft. Ihre unbegrenzte Mischbarkeit mit Wasser läßt der Lösungsmittelzusammensetzung einen weiten Spielraum. Es besteht ferner nicht die Gefahr, daß es, wie bei wassergesättigten organischen Flüssigkeiten bisweilen der Fall ist, durch geringe Temperaturschwankungen während des Chromatographierens zur Emulsionsbildung kommt. Schließlich wandern sie sehr schnell und brauchen deshalb nur kurze Laufzeiten.

Die angewandten Lösungsmittel hatten folgende Zusammensetzungen:

Salzsäure (D 1,19) :	Methanol :	Wasser
ml	ml	ml
10	90	—
10	80	10
10	70	20
10	60	30
10	50	40
5	95	—
5	80	15
5	70	25
5	60	35
5	50	45

Wie aus den Abb. 2—6 (S. 244) zu ersehen ist, besteht eine deutliche Beziehung zwischen den R_f-Werten der untersuchten Kationen und dem

Methanolgehalt des Lösungsmittels. Die mit 90%igem, salzsaurem Methanol wenig wandernden Metall-Ionen legen mit sinkendem Alkohol-

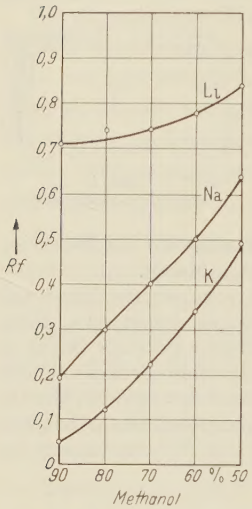


Abb. 2. Alkaligruppe.

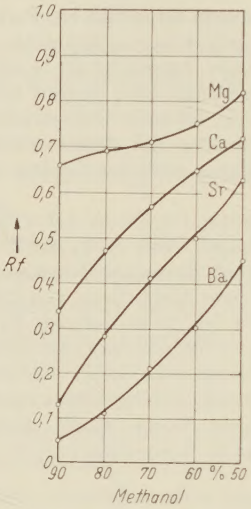


Abb. 3. Erdalkaligruppe.

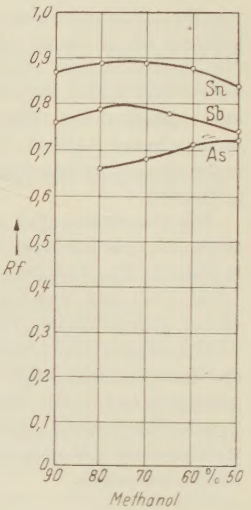


Abb. 4. Arsengruppe.

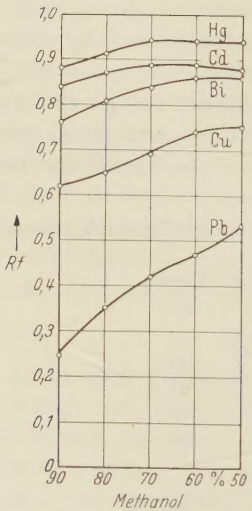


Abb. 5. Quecksilbergruppe.

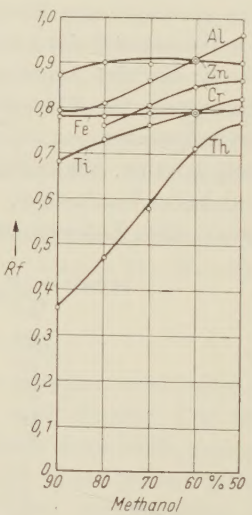


Abb. 6. Ammonium-Sulfidgruppe*.

*Co-, Ni-, Mn- und UO_2-Ion verhalten sich etwa wie Ti, Be wie Al.

gehalt zunehmend größere Strecken zurück. Besonders deutlich tritt dies bei Blei, Thorium, Alkalien und Erdalkalien zutage. Es scheint all-

gemein eine gewisse Parallelität zwischen der Löslichkeit in Alkohol und der Wanderungsgeschwindigkeit zu bestehen, da Metallsalze von bekannt guter Alkohollöslichkeit sehr weit vorankommen, während die wenig löslichen stets geringe Werte inne haben. Mit zunehmendem Wassergehalt steigt dann deren Löslichkeit und entsprechend der R_f-Wert stark an. Die Versuchsreihe mit halber Säurekonzentration ergab bei gleichem Gesamteindruck recht ähnliche Werte (sie wurden der Übersichtlichkeit halber nicht in die Abbildungen aufgenommen).

Aus den „R_f-Wert-Kurven" läßt sich sehr leicht die günstigste Lösungsmittelzusammensetzung zur Trennung eines bestimmten Stoffgemisches ablesen. Im allgemeinen wird der Trenneffekt bei höheren Alkoholkonzentrationen besser sein, da sich mit steigendem Wassergehalt die Flecken in der oberen Hälfte zusammenschieben und zudem größer werden.

Bei vergleichender Betrachtung der R_f-Werte ist die Reproduzierbarkeit der Einzelmessungen von entscheidender Bedeutung. Es ist nun Tatsache, daß der R_f-Wert einer Substanz mit einem bestimmten Lösungsmittel trotz sorgfältiger Einhaltung der vorgegebenen Bedingungen gewissen Schwankungen unterliegt. G. Zimmermann[31] führt in seiner Kritik der R_f-Werte neun verschiedene Faktoren an, von denen diese Zahlengröße abhängt. Einige dieser Einflüsse können vom Analytiker ausgeschaltet werden, andere wiederum entziehen sich seiner Kontrolle. Im vorliegenden Fall kann die Reproduzierbarkeit als befriedigend bezeichnet werden. Auf einem Bogen entwickelte Flecke gleicher Art wiesen höchstens Schwankungen von $\pm$ 0,02 auf. Stärkere Streuungen — ohne erkennbare Ursache — bei zeitlich auseinanderliegenden Versuchen wurden gelegentlich bei den wenig wandernden Kationen festgestellt, doch erfolgte die Abweichung in solchen Fällen stets gleichsinnig, so daß wenigstens die Aufeinanderfolge der Flecke dadurch nicht verändert wurde.

2. Der Einfluß der Säurekonzentration.

Obschon verschiedentlich[1, 4] von guten Trennungen der Alkalimetalle mit neutralen wäßrigen Alkoholen berichtet wurde, so sprechen doch einige Gründe für die Einbeziehung eines sauren Anteils in das Lösungsmittel. Verschiedene Metallsalzlösungen hydrolysieren während des Entwickelns unter neutralen Bedingungen oder schon beim Eintrocknen der Starttüpfel. Das Ergebnis sind schlechtgeformte Flecke. Auch die angestrebte Unabhängigkeit von den in der Untersuchungslösung etwa anwesenden Anionen kann — so man die Behandlung mit Austauscharzen außer Betracht läßt — nur in einem sauren Lösungsmittel erreicht werden, das die Bildung schwerlöslicher Niederschläge durch Phosphat, Borat, Oxalat u. ä. verhindert.

Auf die Kationen wirken sich Änderungen der Säurekonzentration des Lösungsmittels (Zusammensetzung siehe Tab. 1) recht unterschiedlich aus. Einige wandern bei zunehmendem Säuregehalt deutlich langsamer, während andere ihre Wanderung beschleunigen. Daneben scheinen einige ein Minimum bzw. Maximum zu durchlaufen (Abb. 7).

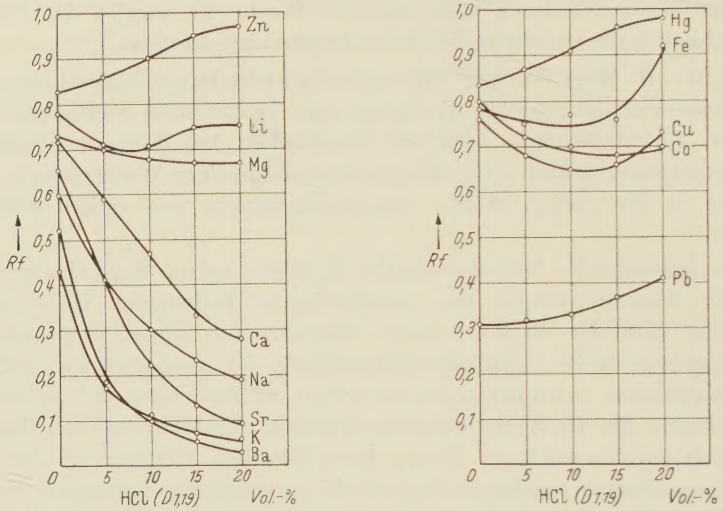


Abb. 7. Der Einfluß der Säurekonzentration des Lösungsmittels auf den R_f-Wert.

Der Säureanteil des Lösungsmittels ist nicht ohne Einfluß auf dessen Wanderungsgeschwindigkeit. Steigende Säuremengen bei gleicher Alkoholkonzentration bedingen deutlich längere Laufzeiten bis zum Erreichen der gleichen Steighöhe (Tab. 1).

Tabelle 1. *Laufzeit und R_f-Wert der „zweiten Lösungsmittelfront" für verschiedene Lösungsmittel abgestufter Säurekonzentration.*
Papier: Sch. & Sch. 2043 b; Temperatur: 22° C; Steighöhe: 20 cm.

Lösungsmittel, bestehend aus Salzsäure (1,19), Methanol und Wasser im Volumenverhältnis	Laufzeit in min	„R_f-Wert" der zweiten Lösungsmittelfront
0:80:20	140	0,86
5:80:15	158	0,89
10:80:10	168	0,93
15:80: 5	185	1,0
20:80: 0	210	1,0

Beim Sprühen der getrockneten Chromatogramme mit Oxychinolin und Ammoniak wurde verschiedentlich in einem gewissen Abstand unter der Lösungsmittelfront eine weitere, etwas wellige Linie als untere Begrenzung eines im UV-Licht intensiv gelbgrün fluorescierenden Bandes

sichtbar. Wie sich nachweisen ließ, trat in diesen Fällen eine „capillaranalytische" Auftrennung des Lösungsmittels ein. Die zwischen erster und „zweiter" Lösungsmittelfront befindliche Flüssigkeit verdunstete besonders rasch und läßt somit vermuten, daß es sich um reines Methanol handelte. Das Auftreten einer zweiten Front und gegebenenfalls deren Abstand zur ersten hängt von der Säurekonzentration des Lösungsmittels ab. In Tab. 1 (S. 246) ist das Verhältnis der beiden Fronten zueinander als Quotient der jeweils zurückgelegten Strecken ausgedrückt (R_f-Wert der zweiten Lösungsmittelfront). Inwieweit die Wanderungsgeschwindigkeiten der zweiten Lösungsmittelfronten sich gleichen, wäre durch weitere Versuche festzustellen.

Für die Praxis empfiehlt sich die Anwendung einer höheren Säurekonzentration, da hierdurch die Verteilung der Flecke über die vom Lösungsmittel durchwanderte Fläche verbessert wird. Vor allen Dingen soll die Säurekonzentration groß genug sein, um die eingangs erwähnte Bildung von basischen Salzen zu verhindern oder unter Umständen beim Trocknen der Starttüpfel entstandene wieder aufzulösen. In diesem Zusammenhang ist die Art und Dauer des Eintrocknens der Startflecke besonders wichtig. Bei zu langem oder zu scharfem Trocknen bilden vor allem Zinn, Wismut, Antimon, Zirkonium und Thorium basische Salze, die sich auch mit stärkerer Säure nur langsam und unvollständig auflösen, so daß auf dem entwickelten und besprühten Chromatogramm eine lang hingezogene Zone erscheint. Nach den gesammelten Erfahrungen ist es am besten, die aufgetragenen — in 2 n Salzsäure gelösten — Metallsalze bei Zimmertemperatur zu trocknen, bis keine Feuchtigkeit mehr wahrnehmbar ist. Die Trocknung kann als genügend angesehen werden, wenn die rosa Farbe eines Kobaltflecks in blau umschlägt.

3. Einfluß der Säureart.

Das bis jetzt am geeignetsten gefundene Lösungsmittelgemisch aus Salzsäure, Methanol und Wasser im Verhältnis 10:80:10 entspricht in seiner Zusammensetzung ziemlich genau einer 1 n Salzsäurelösung in 80%igem Methanol. Es ist nun durchaus denkbar, daß die Brauchbarkeit eines Lösungsmittels lediglich von der Wasserstoff-Ionenkonzentration bzw. vom Säureäquivalent abhängt und die Natur der Säure gar keine wesentliche Rolle spielt. Um diese Frage zu klären, wurden entsprechend 1 n Lösungen von Salpetersäure, Schwefelsäure, Perchlorsäure und Essigsäure in 80%igem Methanol hergestellt.

Die mit den obigen methanolischen Säurelösungen erhaltenen Chromatogramme sind nun tatsächlich in der Mehrzahl nicht sehr voneinander verschieden (Tab. 2, S. 248). Abgesehen von den Fällen, wo ein Kation mit der Säure ein schwerlösliches Salz bildet, stimmt meist nicht nur die Aufeinanderfolge der Flecke, sondern sehr oft auch der R_f-Wert eines

Kations in den verschiedenen Lösungsmitteln innerhalb der Fehlergrenze überein. Im einzelnen sind folgende Ausnahmen festzustellen:

Tabelle 2. *R_f-Werte verschiedener Kationen mit 1 n Säurelösungen in 80%igem Methanol als Lösungsmittel.*
Papier: Sch. & Sch. 2043b; Temperatur: 21° C; Laufzeit: 3 Std.

R_f	Salzsäure	Salpetersäure	Schwefelsäure	Perchlorsäure	Essigsäure
1,0					
				Hg	
0,9	Zn, Sn, Hg	Zn, Sn, Hg		Zn, Sn, Al	
	Cd	Be	Zn, Hg	Be	Be
	Be	Al	Sn, Be		Hg
	Bi	Cr, U	Al	U	Zn
0,8	Al			Fe, Ti	Fe, U
	Cr, Sb	Fe, Mn	U	Li, Co, Mn	Co, Mn
	Fe, Ti, U	Ti, Li, Bi, Cd	Fe, Co, Mn	Cu, Ni	Sn, Cu, Ca
	Li, Mn	Cu, Co, Ni, Mg	Cu, Cd, Li, Ni	Cd, Mg	Li, Ni, Mg
0,7	Co, Mg	(Zn)	Bi, Ti		Bi, Cd
	Ni, Cu		Mg		Sr
	As	As, Ca	As	As	
0,6				Ca	
					Na
					Ba
				Bi	
0,5					
	Ca	Sr	Na		K
		Na		Na	
0,4		Pb			Ag
	Pb				
				Sr	
0,3	Na	Ba, K	K		Pb
	Sr				
		Ag			
0,2				Pb, Ba	
				Ag	
	Ba, K				
0,1					
			Ca		
0	Ag		Pb, Ba, Sr	K	

Anmerkung: Verschiedene Kationen sind in einzelnen Spalten nicht aufgeführt. Sie geben mit dem betreffenden Lösungsmittel langgezogene Zonen (Schwänze). Nebenzonen sind in Klammern gesetzt.

Essigsäure gibt mit Barium, Strontium, Calcium, Natrium, Kalium und Silber weit höhere R_f-Werte als die übrigen Säuren. Auch in Salpetersäure wandern die Erdalkalien etwas schneller. Cadmium mit einem R_f-Wert von durchschnittlich 0,72 erreicht mit Salzsäure einen solchen von 0,87. Etwas niedrigere Werte als dem Durchschnitt entsprechen, geben Zinn, Blei und Zink mit Essigsäure, Blei und Wismut mit Perchlorsäure, Kalium und Kupfer mit Salzsäure. Vieles spricht hierbei für eine funktionelle Abhängigkeit des R_f-Wertes von dem Löslichkeitsprodukt aus Metall-Ion und Anion des Fließmittels. Vergleiche in diesem Sinn scheitern an den nicht vorhandenen bzw. nicht zugänglichen Unterlagen über die Löslichkeitsverhältnisse der betreffenden Salze in 80%igem Methanol. Die Erdalkalien und Blei geben mit Schwefelsäure, Silber mit Salzsäure, Kalium mit Perchlorsäure schwerlösliche Verbindungen und dementsprechend findet keine oder nur geringe Wanderung statt.

Die gelegentlich auftretende unangenehme Schwanzbildung ist durch eine gewisse Schwerlöslichkeit oder einsetzende Hydrolyse bedingt. Durch entsprechendes Verdünnen der Substanzlösung lassen sich die auf zu geringer Löslichkeit beruhenden Schwänze beseitigen. Eine 1%ige Pb^{++}-Lösung (Acetat als Anion) gibt mit Salzsäure in Methanol eine von der Startlinie nach oben ziehende Zone. Wird jedoch auf das doppelte Volumen verdünnt, oder eine kalt gesättigte Bleichloridlösung in 2 n Salzsäure am Startpunkt aufgetragen, so entsteht mit dem gleichen Lösungsmittel ein wohlausgebildeter Fleck mit einem R_f-Wert von 0,39.

Die unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit einzelner Kationen in den verschiedenen alkoholischen Säurelösungen ist analytisch recht wertvoll. Cadmium läßt sich beispielsweise nur mit salzsaurem Methanol von Kobalt, Nickel und Mangan exakt trennen. Andererseits ist die Abtrennung des Kaliums vom Barium nur mit schwefelsaurem oder perchlorsaurem Methanol zu verwirklichen. Die Methode bietet ferner die Möglichkeit, geringe Mengen eines Stoffes bei großem Überschuß eines

Tabelle 3. *Zusammenstellung der insgesamt verwendeten Alkohole und Ketone.*

	Anzahl der Kohlenstoffatome				
	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5
Einwertige Alkohole	Methanol	Äthanol	n-Propanol Isopropanol	n-Butanol Isobutanol sec. Butanol tert. Butanol	n-Pentanol Isopentanol
Mehrwertige Alkohole		Glykol	Glycerin		
Einfache Ketone			Aceton	Methyl-äthylketon	

Tabelle 4. *Die Verteilung der Kationen auf den mit Lösungsmitteln*

R_f	Methanol Salzsäure Wasser 80:10:10	Äthanol Salzsäure Wasser 80:10:10	n-Propanol Salzsäure Wasser 80:10:10	Isopropanol Salzsäure Wasser 80:10:10	n-Butanol Salzsäure Wasser 80:10:10	sec. Butanol Salzsäure Wasser 80:10:10
1,0						
		Hg, Zn	Sn,Hg,Cd,Zn	Hg,Cd,Zn		Sb, Hg
		Sn, Cd	Sb	Sn		Sn, Cd, Zn
0,9	Zn, Sn, Hg	Sb, Bi				
	Cd					
	Be				Hg, Sn	
	Bi			Bi	Zn, Sb	
0,8	Al		Bi		Cd	
	Sb, Cr	Be				
	Fe, Ti, UO_2					
	Mn, Li					As
0,7	Co, Mg					
	Cu, Ni	Fe	As			Fe
	As	As		Fe	As	
						Bi
0,6		Li			Bi	
		Ti, UO_2		As		
			Fe			
0,5			Be	Be		
	Ca	Cr, Al				
		Cu				
0,4		Mn, Mg				
	Pb	Co			Fe	
			Li			
		Ni				
0,3	Na	Pb	UO_2	UO_2, Li		
	Sr		Pb			Be
			Cu, Ti		Be	
				Pb,Cu,Ti		
0,2		Ca, Na			Pb, UO_2	Pb, Li
			Mn	Mn	Li	UO_2
			Al, Co, Mg	Al, Co, Mg	Cu	Cu
	Ba, K		Ni, (Fe)*	Ni, (Fe)*	Ti	Ti
0,1		K	Cr, Na	Cr, Na		
		Sr	Ca	Ca	†	Cr,Mn,Mg,Na
			K	K	Cr, Al, Ca	††
		Ba	Ba, Sr	Sr	Sr	Sr
0				Ba	Ba	Ba

* Nebenzonen in Klammern. † K, Na, Mg, Mn, Ni, Co. †† Al, Co, Ni, K, Ca.

verschiedenen organischen Anteils entwickelten Chromatogrammen.

tert. Butanol Salzsäure Wasser 80:10:10	Isobutanol Salzsäure Wasser 80:10:10	Pentanol Salzsäure Wasser 80:10:10**	Isopentanol Salzsäure Wasser 80:10:10**	Aceton Salzsäure Wasser 80:10:10	Methyl-äthylketon Salzsäure Wasser 80:10:10	R_f
						1,0
Hg, Cd, Zn						
	Zn					
Fe	Hg					
Sn	Sb, Sn				Sn	0,9
	Cd					
		Sb, Sn		Sn, Hg		
	As					
		Hg		Bi, Zn	Hg	0,8
			Sn			
		Zn				
		As, Cd	Sb	Fe		
			Hg, Zn	Sb, Cd	Fe	0,7
Bi			As, Cd		Sb	
				UO_2		
				As	Bi	0,6
		Fe		Cu	Zn	
				Pb	As, Cd	
	Bi		Fe		UO_2	0,5
	Fe					
Be				Be	Pb	0,4
				Co, Li	Cu	
		Bi	Bi			
					Be	0,3
Pb, Li	Be				Li	
	Pb			Mn		0,2
Cu, UO_2	Cu, Li					
Ti	UO_2	Be, UO_2	Be	Ti		
	Ti	Cu	Cu	Mg, Na	Co, Ti, Mg	
Cr, Mn, Mg		Ti	Ti, UO_2	Cr	Mn, Na, K	0,1
Al, Co, Na	Co, Mn	Pb		Al, Ni, Ca, K	Cr, Al, Ni	
Ni, Ca, K	⊙	Co, Li	Pb, Co, Li		Ca	
Sr	Sr, Ba	Cr, Al, Ni, Mn	Cr, Al, Ni, Mn	Sr, Ba	Sr, Ba	
Ba	△	△				0

** Wäßrige Phase gesondert beigegeben. ⊙ Cr, Al, Ni, Ca, Mg, Na.
△ Ba, Sr, Ca, Mg, Na, K

anderen störungsfrei nachzuweisen. So können z. B. geringe Alkalimengen neben viel Erdalkalien durch Chromatographieren mit einer schwefelsauren Methanollösung sicher erkannt werden.

4. Auswirkungen des Wechsels des organischen Anteils.

Der dominierende Bestandteil des Lösungsmittels war bisher das Methanol. Im Zuge der weiteren Untersuchungen wurde dieses nun durch verschiedene andere Alkohole und Ketone ersetzt (Tab. 3, S. 249).

Die Zusammensetzung der Lösungsmittel aus Salzsäure (D 1,19), organischem Anteil und Wasser erfolgte im Volumenverhältnis 10:80:10. Bei Amylalkohol und Isoamylalkohol wurde die gebildete wäßrige Phase abgetrennt und gesondert in das Entwicklungsgefäß gegeben. Demzufolge sind die hiermit erhaltenen Ergebnisse mit den anderen nicht streng vergleichbar (Tab. 4, S. 250/51).

In der Reihe der normalen primären Alkohole ergibt sich für die überwiegende Mehrzahl der Kationen ein geringer werdender Wanderungsweg bei zunehmender Kohlenstoffzahl des Alkohols (vgl. hierzu auch Lederer[14]). Antimon, Zinn, Quecksilber, Wismut, Cadmium und Zink erreichen optimale R_f-Werte mit Äthanol und Propanol, während Arsen auf allen Chromatogrammen den gleichen Platz einnimmt.

Zwischen den mit salzsaurem Propanol und Isopropanol erhaltenen R_f-Werten bestehen bis auf zwei Ausnahmen keine Unterschiede; Eisen wird mit beiden Lösungsmitteln in zwei Zonen aufgespalten, wobei der schwächeren jeweils ein R_f-Wert von 0,12 zukommt, während die Hauptzone mit 0,53 (Propanol) und 0,65 (Isopropanol) verschieden schnell wandert. Das auf die bisherigen Änderungen der Lösungsmittelzusammensetzung kaum reagierende Arsen wandert mit Isopropanol deutlich langsamer.

Bei den isomeren Butanolen nehmen im allgemeinen die R_f-Werte der Kationen in der Reihenfolge n-Butanol, Isobutanol, sek. Butanol, tert. Butanol um ein Geringes zu. Stark aus der Reihe fallen die hohen R_f-Werte von Eisen mit sek. und tert. Butanol, Beryllium mit tert. Butanol und Arsen mit Isobutanol. Auffallend niedrig sind dagegen die Steighöhen von Arsen, Antimon, Quecksilber, Cadmium und Zink mit n-Butanol, von Wismut mit Isobutanol.

Glykol und Glycerin erwiesen sich im vorliegenden Fall recht ungeeignet. Nach einer Laufzeit von 26 Std — bedingt durch die langsame Wanderung der Lösungsmittel — fanden sich alle aufgetragenen Kationen (As, Sb, Sn, Hg, Pb, Cu, Bi, Cd, Th, UO_2, Na, Li) an der Lösungsmittelfront.

Aceton als organischer Lösungsmittelbestandteil bewirkt vor allem die Trennung von Kobalt, Nickel und Mangan, die sonst mit keinem anderen Lösungsmittel zu erreichen ist. Die R_f-Werte der wenig wandern-

den Metalle (Alkali-, Erdalkalimetalle, Al, Cr, Th, TiO) entsprechen etwa den mit Isopropanol erhaltenen. Arsen, Blei, Kupfer, Eisen, Kobalt und Uran wandern mit Aceton schneller, Zinn, Quecksilber, Cadmium, Nickel und Zink langsamer als mit Isopropanol. Zu bemerken ist noch, daß die mit Aceton erhaltenen R_f-Werte schlecht reproduzierbar sind. Methyläthylketon bringt im Vergleich zu Aceton für eine Reihe von Metallen niedrigere R_f-Werte. Unveränderte Steighöhen weisen Antimon, Eisen, Chrom, Aluminium, Nickel, Thorium und die Erdalkalimetalle auf. Um Geringes höher sind die R_f-Werte von Zinn (+ 0,07) und Kalium (+ 0,03).

Abgestufte Mischungen von Aceton und Methanol als organischem Lösungsmittelanteil führten zu überraschenden Ergebnissen. Bei verschiedenen Mischungen bildete nämlich ein Metall zwei Zonen, so Arsen, Kupfer, Eisen, Nickel, Kobalt, Mangan und Uran. Die Bedeutung bzw. die Ursache der Aufspaltung ist nicht klar. Die Teilflecke liegen meist zwischen den mit reinem Aceton bzw. Methanol erhaltenen Flecken, weisen aber keine direkte Beziehung zu letzteren auf. Die Aufspaltung ist auch nicht, wie vielleicht angenommen werden könnte, durch verschiedene Wertigkeitsstufen des Kations begründet.

5. Der Anioneneinfluß.

Zur Untersuchung des Anioneneinflusses wurden zwei Wege eingeschlagen: Einmal chromatographierte man die Metalle in Form ihrer verschiedenen Salze, zum anderen wurde das als Chlorid gelöste Metall mehrmals in einer Menge von 30 μg auf das Papier aufgetragen, eingetrocknet und jedem Rückstand ein Tropfen mit 300 μg eines jeweils anderen Anions (Natrium als Kation) zugesetzt. Zur Anwendung kamen hierbei Sulfat, Nitrat, Phosphat, Fluorid, Acetat und Oxalat. Als Lösungsmittel diente Salzsäure-Methanol-Wasser (10:80:10). Die verschiedenen Salze eines Metalls ergaben für das Kation in allen Fällen gleiche R_f-Werte (Tab. 5).

Tabelle 5.

R_f-Werte von Metallen, die in Form verschiedener Salze chromatographiert wurden.
Lösungsmittel: Salzsäure-Methanol-Wasser (10:80:10).

Kation	Anion			
	Chlorid R_f	Sulfat R_f	Nitrat R_f	Acetat R_f
Cadmium	0,96	0,96	0,95	0,94
Quecksilber	0,92	0,93	0,92	0,93
Kupfer.	0,68	0,68	0,68	0,69
Blei	0,39	—	0,40	0,38

Die angewendeten Lösungen waren 1%ig bezogen auf das Kation. Die löslichen Bleisalze ergaben in dieser Konzentration jedoch geschwänzte Zonen. Nach einer Verdünnung der Lösung auf das Zehnfache bildeten sich einwandfreie Flecke aus.

Der zehnfache Überschuß an zugesetzten „Fremdanionen" führte ebenfalls zu keiner wesentlichen Beeinflussung der Flecken, soweit nicht salzsäureunlösliche Niederschläge entstanden (Tab. 6). Barium und Blei wurden durch Sulfatzusatz ausgefällt und blieben auf der Startlinie

Tabelle 6.

Der Einfluß verschiedener Anionenzusätze auf den R_f-Wert von Kationen.

Lösungsmittel: Salzsäure-Methanol-Wasser (10:80:10).

30 µg Metall	gelöst als Chlorid R_f	aufgetragen unter Zusatz von 300 µg Sulfat R_f	Nitrat R_f	Phosphat R_f	Fluorid R_f	Oxalat R_f	Acetat R_f
Mg^{2+}	0,71	0,72	0,73	0,74	0,66	—	0,72
Ca^{2+}	0,42	0,42	0,44	0,44	0,44	0,45	—
Sr^{2+}	0,23	0,17	0,26	0,25	0,28	0,28	—
Ba^{2+}	0,09	0	0,09	0,09	0,09	0,10	0,09
Fe^{3+}	0,77	0,78	0,78	0,78	0,78	—	0,77
Co^{2+}	0,73	0,74	0,74	0,74	0,78	0,73	0,73
Ni^{2+}	0,67	0,69	0,69	0,68	0,71	0,67	—
Mn^{2+}	0,70	0,71	0,72	0,73	0,73	0,74	0,72
Zn^{2+}	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	—
Bi^{3+}	0,84	0,84	0,83	0,85	0,83	0,86	0,86
Pb^{2+}	0,39	0	0,39	0,40	—	0,37	0,38

liegen, Strontium wanderte aus dem gleichen Grunde etwas langsamer. Ohne Einfluß waren dagegen die sonstigen erdalkalifällenden Anionen: Phosphat, Fluorid und Oxalat. Der konstante R_f-Wert eines Kations trotz wechselnden Anions läßt sich befriedigend nur durch die Annahme erklären, daß Kation und Anion eines aufgetragenen Salzes getrennt wandern. Tatsächlich nehmen beide auf dem Chromatogramm verschiedene Plätze ein. Ein Tropfen einer 1%igen Dinatriumhydrogenphosphatlösung ergibt z. B. nach dem Entwickeln für Natrium einen R_f-Wert von 0,30 und für das Anion einen solchen von 0,92. Wenn demgegenüber verschiedentlich[1, 4, 15] der Nachweis des Kations nur indirekt über das Anion geführt wird, so ist das ein augenfälliger Beweis dafür, in welchem Maße die Versuchsanordnung die Art der Wanderung beeinflußt. Die gegensätzlichen Ergebnisse sind nur so zu erklären, daß in einem Fall das Salz als Molekül wandert, im anderen die Dissoziationsprodukte — und zwar unabhängig voneinander. Von der Zusammensetzung des Lösungsmittels hängt es ab, in welcher Form die Wanderung erfolgt. Nachdem in den zitierten Fällen wasserfreie Alkohole als Lösungsmittel Verwendung fanden, läßt sich daraus folgern, daß im allgemeinen mit wasserfreien, neutralen Lösungsmitteln eine Wanderung undissoziierter Salze stattfindet, während ein Wassergehalt und gegebene Zusätze an Säure oder Lauge eine Dissoziation der Untersuchungssubstanz bewirken[2].

6. Einfluß der Substanzmenge und gegenseitige Beeinflussung der Kationen.

Allgemein gilt, daß der R_f-Wert unabhängig von der am Startpunkt aufgetragenen Substanzmenge ist. Dies ist aber nur bedingt richtig — solange nämlich, als jene unter einer kritischen Konzentration bleibt. Diese obere Grenze ist in den meisten Fällen nicht bekannt. CRAMER[6] gibt als Richtlinie 60 μg je Komponente an. Sind die Bestandteile eines Gemisches in unterschiedlichsten Mengen vertreten, wie das bei einer anorganischen Analyse wohl häufig der Fall ist, so wird die Konzentration der aufzubringenden Lösung weitgehend durch die Erfassungsgrenze der in Frage kommenden Stoffe bestimmt. Es läßt sich nun nicht vermeiden, daß dadurch die Hauptanteile obige Richtzahl weit überschreiten. Unter diesem Gesichtspunkt schien es angebracht, sich auch mit dem Verhalten größerer Substanzmengen auseinanderzusetzen. Grundsätzlich wird die Stoffkonzentration durch die Löslichkeit der Substanz im Lösungsmittel bzw. der wandernden Phase und die Adsorptionskapazität des Papiers bzw. die Löslichkeit in der stationären Phase* nach oben hin begrenzt. Befindet sich am Startpunkt mehr Substanz als das Lösungsmittel auf Anhieb aufzunehmen vermag, so dauert es geraume Zeit, bis die fortwährend neu herangeführte Flüssigkeit — als gesättigte Lösung weiterziehend — den Fleck restlos aufgelöst hat. Die langgezogene Zone substanzgesättigten Lösungsmittels tritt nach dem Sichtbarmachen als „Schwanz" in Erscheinung. Eine weitere Bildungsmöglichkeit ist gegeben, wenn sich die Zusammensetzung des Lösungsmittels bei fortschreitender Wanderung ändert, z. B. durch Adsorption von Wasser an der Papierfaser oder durch capillare Entmischung (vgl. „zweite" Lösungsmittelfront!). Die Löslichkeitsverhältnisse für eine an sich gelöste Substanz können sich dadurch so weit verschlechtern, daß der über die Sättigungsgrenze hinausgehende Anteil laufend abgeschieden wird. Diese Bildungsweise ist vor allem bei geschwänzten Zonen höheren R_f-Werts anzunehmen.

Die Löslichkeit der Substanz in der Entwicklerflüssigkeit [Methanol-Salzsäure-Wasser (80:10:10)] hat sich bei den Versuchen als der entscheidende substanzbegrenzende Faktor herausgestellt. Während die meisten Kationen bis zu einer Konzentration von 1% (Starttropfen $\leq$ 300 μg) noch keine veränderten Flecke ergaben, waren Chrom, Aluminium, Beryllium, Zirkonium und Blei nicht mehr genügend löslich und bildeten deshalb langgezogene Zonen. Bisweilen besteht die Aussicht, durch Chromatographieren bei höheren Temperaturen solche Mißbildungen zu vermeiden, da die Löslichkeit fast immer stark temperaturabhängig ist. So liefern z. B. 300 μg Aluminium bei 56° C einen tadellosen Fleck.

* In diesem Zusammenhang ist es gleichgültig, welcher Theorie man den Vorzug gibt.

Nicht so einheitlich sind die mit der Adsorptionskapazität des Papiers zusammenhängenden Erscheinungen, wie die an den Erdalkalimetallen durchgeführten Untersuchungen ergaben. Chromatographiert wurden je 0,02 ml einer 0,01%igen, 0,1%igen, 1%igen und 10%igen Lösung in

Tabelle 7.

Einfluß der Substanzmenge auf R_f-Wert und Fleckengröße bei den Erdalkalien.
Lösungsmittel: Salzsäure-Methanol-Wasser (10:80:10).

Kation	Konzentration %	R_f-Wert			Fleckengröße mm²
		Spitze	Mitte	Ende	
Mg^{2+}	0,01	0,78	0,74	0,70	124
	0,1	0,81	0,74	0,67	364
	1	0,81	0,72	0,63	528
	10	0,74	0,61	0,48	712
Ca^{2+}	0,01	nicht mehr erfaßbar			
	0,1	0,53	0,47	0,42	196
	1	0,56	0,47	0,38	377
	10	0,61	0,48	0,35	775
Sr^{2+}	0,01	0,25	0,22	0,18	78
	0,1	0,28	0,23	0,18	104
	1	0,35	0,25	0,16	327
	10	0,49	0,33	0,16	774
Ba^{2+}	0,01	nicht mehr erfaßbar			
	0,1	0,12	0,09	0,06	64
	1	0,17	0,09	0,02	264
	ges.*	0,19	0,10	—0,01**	340

* Bariumchlorid, gesättigt in 2 n-Salzsäure ($< 10\%$ Ba^{2+}).
** Startfleck nicht vollständig aufgelöst.

2 n Salzsäure, entsprechend 2—2000 µg Magnesium, Calcium und Strontium. Barium war zu 10% nicht mehr löslich, hierfür kam eine gesättigte Lösung in Anwendung.

Am einfachsten liegen die Verhältnisse beim Calcium. Mit steigender Substanzkonzentration dehnt sich der Fleck gleichmäßig nach allen Seiten aus, wobei die eingenommene Fläche etwa proportional dem Logarithmus der Konzentration wächst. Der R_f-Wert ändert sich dabei praktisch nicht (Tab. 7). Bei Strontium hingegen bewirken größere Mengen neben einer geringen Verbreiterung vor allem eine Verlängerung des Flecks nach oben, während das untere Ende in etwa gleicher Höhe bleibt. Die R_f-Werte steigen demnach an. Barium ist insofern ein Sonderfall, als der Startfleck der gesättigten Lösung in der gegebenen Zeitspanne nicht vollständig aufgelöst wird. Aus der bis dahin gebildeten Zone ist aber immerhin zu ersehen, daß die Adsorptionskapazität des Papiers bis zur Löslichkeitsgrenze des Bariums nicht ausgeschöpft ist.

Die R_f-Werte der Flecke geringerer Konzentration sind gleich. Recht undurchsichtig ist das Verhalten des Magnesiums. Während die Flecke von 2—200 μg noch annähernd gleiche R_f-Werte inne haben, wandert der 2000 μg-Fleck bedeutend langsamer. Es fällt ferner auf, daß die Flecke — mit Ausnahme des kleinsten — einen abgegrenzten Kern stärkerer Konzentration aufweisen, der je nach Menge, von einem mehr oder weniger breiten Hof umgeben ist.

Beschreibt man die Wanderung eines Kations als Adsorptionsvorgang an Hand einer Adsorptionsisotherme, so verläuft diese für Calcium und Barium im Untersuchungsbereich gradlinig. Dem Anstieg der R_f-Werte des Strontiums mit der Konzentration wird der stärker gekrümmte Teil einer LANGMUIRschen Isotherme gerecht. In Übereinstimmung mit der Theorie ist innerhalb der Flecke ein deutliches Konzentrationsgefälle von der Spitze gegen das Ende vorhanden. Nur das Verhalten des Magnesiums läßt sich nach keiner Richtung befriedigend erklären, so man nicht zu dem paradoxen Satz kommen will, daß die Adsorption mit der adsorbierten Stoffmenge zunimmt.

Mit Ausnahme des schon erwähnten Calciums zeigt sonst kein Kation eine Beziehung zwischen Fleckengröße und Substanzmenge. Allerdings sind die Fleckengrößen der niederen Konzentrationen problematisch, da hier die Erfassungsgrenze den Fleck willkürlich verkleinert.

Eine gegenseitige Beeinflussung der Kationen einer Mischung während des Chromatographierens wurde bis zu 100 μg je Bestandteil nicht beobachtet. Über diese Menge hinaus liegen keine systematischen Versuche vor, doch stellte sich bei einigen Analysen mit extremen Konzentrationsunterschieden heraus, daß große Mengen eines Kations auf dem Chromatogramm einen knapp über diesem liegenden Fleck eines anderen Ions leicht „anheben" können, mit anderen Worten, einen höheren R_f-Wert dieser Substanz hervorrufen. Andererseits werden knapp unter größeren Substanzmengen befindliche andersartige Anteile in ihren Steighöhen gelegentlich etwas „gedrückt".

7. Der Einfluß der Temperatur.

Über den Einfluß der Temperatur liegen bereits zahlreiche — wenn auch teilweise widersprechende — Mitteilungen und Beobachtungen vor. Da die Auswirkungen weitgehend von der Versuchsanordnung abhängig sind und wohl selten die Möglichkeit besteht, immer bei gleichen Temperaturen arbeiten zu können, wird man sich notgedrungen in jedem Fall neu mit ihren Einflüssen vertraut machen müssen.

Diesbezügliche Versuche mit dem Lösungsmittel Salzsäure-Methanol-Wasser (10:80:10) haben nun ergeben, daß mit der Erhöhung der Temperatur eine recht deutliche Zunahme der R_f-Werte verschiedener Kationen verbunden ist. Wie schon bei anderen Gegebenheiten, sprechen

auch hier die Stoffe mit geringer Wanderungsgeschwindigkeit am stärksten auf Milieuänderungen an. In der Abb. 8 ist am Beispiel der Alkali- und Erdalkalimetalle die Verschiebung der R_f-Werte über einen größeren

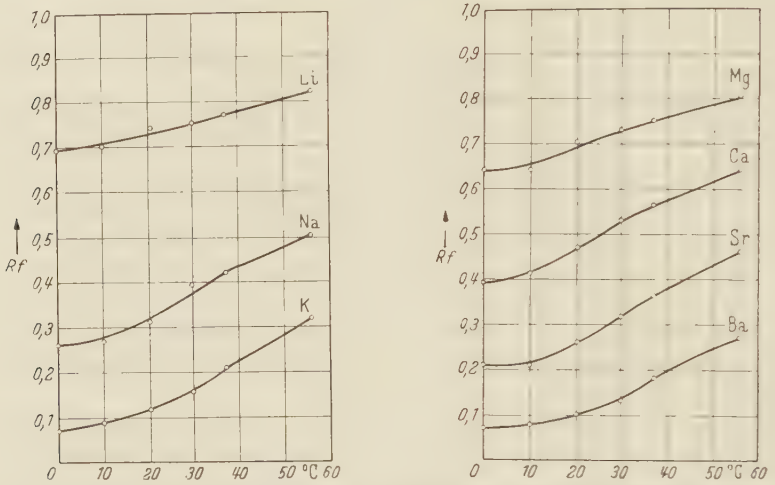


Abb. 8. Abhängigkeit der R_f-Werte der Alkali- und Erdalkalimetalle von der während des Chromatographierens herrschenden Temperatur. — Lösungsmittel: Salzsäure-Methanol-Wasser (10:80:10). Papier: Sch. & Sch., Nr. 2043 b.

Tabelle 8. *Temperaturabhängigkeit der capillaren Entmischung des Lösungsmittels, ausgedrückt durch den Abstand der ersten und zweiten Lösungsmittelfront.*
Lösungsmittel: Salzsäure-Methanol-Wasser (10:80:10).
Papier: Sch. & Sch., Nr. 2043 b.

Entwicklungstemperatur ° C	Abstand der beiden Fronten (Gesamtsteighöhe 20,5 cm)
0	2,2
10	1,7
20,5	1,3
30	0,7
37	0,5 Grenze verwaschen
56	0 Grenze verschwunden

Temperaturbereich graphisch dargestellt. Allerdings werden in der Praxis meist nur Temperaturdifferenzen von einigen wenigen Graden zu berücksichtigen sein. Die Temperatur ist auch ein entscheidender Faktor für die capillare Auftrennung des Lösungsmittels. Während bei 0° C der Abstand der beiden Lösungsmittelfronten 2,2 cm (bei 20,5 cm Steighöhe) beträgt, schrumpft der Zwischenraum mit steigenden Temperaturen immer mehr zusammen und ist bei 56° C schließlich ganz verschwunden (Tab. 8). Gleichzeitig verringert sich die Viscosität des Lösungsmittels und die Laufzeit wird damit erheblich kürzer. Die besseren Flecke von

Aluminium, Chrom und Beryllium infolge günstigerer Lösungsbedingungen wurden schon erwähnt. Allerdings müssen dafür allgemein etwas verschwommenere Flecke und eine verringerte Trennschärfe in Kauf genommen werden.

8. Einfluß der Papiersorte.

Neben der Viscosität ist die Härte des Papiers maßgebend für die Wanderungsgeschwindigkeit eines bestimmten Lösungsmittels. Nach der Zimmermannschen Regel: Große (kleine) Entwicklungsgeschwindigkeit — große (kleine) R_f-Werte, ist demnach auf härteren Papieren mit niedrigeren R_f-Werten zu rechnen. Einige in dieser Richtung mit den Papieren Sch. & Sch., Nr. 2040b (weich), Nr. 2043b (mittel) und Nr. 2045b (hart) angestellte Versuche brachten folgende Ergebnisse (Tab. 9):

Tabelle 9. *R_f-Werte einiger Kationen mit dem Lösungsmittel Salzsäure-Methanol-Wasser (10:80:10) auf verschiedenen Papiersorten.*

Kation	Sch. & Sch. Nr.			Kation	Sch. & Sch. Nr.		
	2040b	2043b	2045b		2040b	2043b	2045b
Sb^{3+}	0,76	0,82	0,68	Th^{4+}	0,75	0,75	0,66
Sn^{4+}	0,89	0,90	0,90	UO_2^{2+}	0,51	0,51	0,43
Hg^{2+}	0,91	0,92	0,85	Be^{2+}	0,86	0,85	0,84
Bi^{3+}	0,80	0,82	0,76	Ba^{2+}	0,11	0,12	0,07
Cu^{2+}	0,64	0,66	0,60	Sr^{2+}	0,26	0,30	0,19
Pb^{2+}	0,33	0,34	0,29	Ca^{2+}	0,46	0,49	0,37
Cd^{2+}	0,88	0,91	0,88	Mg^{2+}	0.67	0,70	0,65
Fe^{3+}	0,69	0,74	0,71	Li^{+}	0,71	0,74	0,68
Al^{3+}	0,79	0,82	0,79	Na^{+}	0,29	0,30	0,20
Co^{2+}	0,66	0,71	0,66	K^{+}	0,11	0,12	0,06
Ni^{2+}	0,63	0,68	0,62	Rb^{+}	0,10	0,11	0,07
Mn^{2+}	0,68	0,71	0,64	Cs^{+}	0,11	0,12	0,07
Zn^{2+}	0,87	0,89	0,86	Au^{3+}	0,87	0,92	0,81
TiO^{2+}	0,75	0,75	0,66	Pt^{4+}	0,89	0,90	0,77
Laufzeit in min:	135	195	360	Laufzeit in min:	135	195	360

Steighöhe 20,5 cm, Temperatur 20° C.

Unter sonst gleichen Bedingungen sind die auf dem harten Papier Nr. 2045b erhaltenen R_f-Werte der Kationen deutlich niedriger als jene auf der mittleren und weichen Sorte. Entgegen den Erwartungen werden aber die höchsten Werte für ein bestimmtes Kation nicht auf dem weichen, sondern auf dem Papier mittlerer Härte erreicht. Die capillare Auftrennung des Lösungsmittels ist anscheinend — jedenfalls soweit sie als Abstand der beiden Fronten in Erscheinung tritt — unabhängig von der Härte des Papiers. Bezieht man wie Lederer[13] die zurückgelegten

Wege der Kationen auf die zweite Lösungsmittelfront, so ergibt auch hiernach Papier Nr. 2043b die durchschnittlich höchsten R_f-Werte, Nr. 2040b etwas niedrigere und Nr. 2045b die niedrigsten.

9. Einfluß des Alters des Lösungsmittels.

Bei Routineuntersuchungen wird man darauf bedacht sein, ein Lösungsmittel möglichst oft zu verwenden, um Zeit und Material zu sparen. Das ist natürlich nur solange möglich, als daraus keine Beeinflussung der Chromatogramme resultiert. Nun kann sich aber die Zusammensetzung des Lösungsmittels bei öfterem Gebrauch oder über einen längeren Zeitraum hin ändern, indem beispielsweise durch mehrmaliges Öffnen des Entwicklungsgefäßes erhebliche Mengen flüchtiger Anteile entweichen, während des Entwickelns ein Bestandteil bevorzugt abgesaugt wird oder der Alkohol zunehmend verestert. Zu Untersuchungen in dieser Richtung wurden ein 3½ Monate altes Lösungsmittel sowie ein über 5 Tage öfter benütztes mit einem frisch bereiteten verglichen. Die R_f-Werte einer Anzahl von Kationen mit den drei Lösungsmitteln sind in Tab. 10 wiedergegeben.

Tabelle 10. *R_f-Werte einiger Kationen mit frisch bereitetem, 5 Tage altem und 3½ Monate altem Lösungsmittel.*
Lösungsmittel: Salzsäure-Methanol-Wasser (10:80:10).

Kation	Alter des Lösungsmittels			Kation	Alter des Lösungsmittels		
	0 Tage R_f	5 Tage R_f	45 Tage R_f		0 Tage R_f	5 Tage R_f	45 Tage R_f
Fe^{3+}	0,78	0,78	0,78	TiO^{2+}	0,75	0,78	0,76
Al^{3+}	0,85	0,86	0,86	Mg^{2+}	0,71	0,73	0,72
Co^{2+}	0,71	0,74	0,73	Ca^{2+}	0,47	0,54	0,49
Ni^{2+}	0,67	0,71	0,70	Sr^{2+}	0,24	0,29	0,30
Mn^{2+}	0,71	0,73	0,72	Ba^{2+}	0,09	0,11	0,13
Zn^{2+}	0,94	0,96	0,95	K^{+}	0,10	0,12	0,16

In der Ausbildung der Flecke waren keine Unterschiede festzustellen. Die R_f-Unterschiede verbleiben im allgemeinen im Rahmen der Fehlergrenze, nur bei den Kationen mit geringer Wanderungsgeschwindigkeit ist ein leichtes Ansteigen mit zunehmendem Alter des Lösungsmittels festzustellen. Die Abweichungen sind jedoch nicht sehr groß und dürften in der Praxis tragbar sein, um so mehr als die in Frage kommenden Kationen ziemlich gleichmäßig und gleichsinnig davon betroffen werden.

10. Sprühmittel.

Die Wahl des Sprühmittels ist eine Frage der Zweckmäßigkeit. Kommt es darauf an, einen Überblick zu gewinnen, so wird man zu einem Reagens greifen, das mit möglichst allen in Frage kommenden Substanzen eine sichtbare Reaktion gibt. Da die einzelnen Bestandteile meist nicht gleich

stark ansprechen, darf die Konzentration der gesuchten Verbindungen nicht zu gering sein. Für die Spurensuche eines bestimmten Elements wird man natürlich ein ausgesprochen empfindliches Reagens heranziehen. Grundsätzlich lassen sich die meisten mikroanalytischen Tüpfelreaktionen[9] auf die Chromatogramme übertragen. Allerdings wird auf diesen — bedingt unter anderem durch die Ausbreitung des Flecks während des Entwickelns — nicht mehr die gleiche Empfindlichkeit wie beim Tüpfeln erreicht. Im vorliegenden Fall handelte es sich nur um ein Sichtbarmachen der Flecke auf dem Chromatogramm, nachdem die vorgegebenen Substanzen bekannt waren. Ein recht universelles Reagens für diesen Zweck ist Oxychinolin. Sprüht man die Chromatogramme mit einer alkoholischen Lösung, nachfolgend mit konzentriertem Ammoniak, so geben die meisten Kationen eine charakteristische Reaktion. Magnesium, Calcium, Strontium, Barium, Beryllium und Aluminium zeigen im UV-Licht eine intensiv gelb- bis blaugrüne Fluorescenz. Zweckmäßig wird unter der Quarzlampe noch mit Ammoniak nachgeräuchert, da die Flecke von Barium, Strontium und Calcium bei zu geringer Ammoniakkonzentration schnell verschwinden. Zirkonium, Zinn, Cadmium und Zink fluorescieren unter den gleichen Bedingungen intensiv goldgelb, während Mangan, Nickel, Kobalt, Eisen, Wismut, Kupfer, Chrom, Thorium, Uran, Titan, Quecksilber und Blei als dunkle Flecke in Erscheinung treten. Für Antimon, Quecksilber und Blei ist der Nachweis jedoch nicht besonders empfindlich. Der Chromfleck erscheint merkwürdigerweise erst nach einigen Tagen. Mit Ausnahme der Erdalkalien sind die Flecke auch bei Tageslicht — vorherrschend grünlich bis bräunlich — gefärbt. Die Alkalien und Arsen reagieren mit Oxychinolin nicht. Natrium und auch Lithium können aber gut durch Besprühen mit einer schwach essigsauren, gesättigten Lösung von Zinkuranylacetat nachgewiesen werden. Die Flecke fluorescieren im UV-Licht intensiv grün. Für den Nachweis des Kaliums werden verschiedene Reagentien empfohlen[8, 26, 29]. Die Reaktion mit Natriumhexanitrosokobaltiat ist wohl sehr empfindlich, leider aber auch recht umständlich. Auf der Suche nach anderen Möglichkeiten wurde im Magnesiumsalz des Dipikrylamins ein recht brauchbares Reagens gefunden. Die rote Lösung gibt mit Kaliumsalzen einen orangeroten Niederschlag. Nach dem Besprühen des Chromatogramms mit 2 n Salzsäure tritt dieser deutlich als roter Fleck auf gelbem Grund in Erscheinung. Auch Dilitursäure (5-Nitrobarbitursäure) kann zum Nachweis herangezogen werden. Kalium erscheint nach dem Besprühen mit einer 0,5%igen wäßrigen Lösung unter der Quarzlampe als heller Fleck auf dunklem Untergrund. Allerdings muß das Sprühen sehr vorsichtig geschehen, weil sonst die dunkle Farbe der freien Säure den hellen Salzfleck verdeckt. Außer Kalium reagieren mit Dilitursäure noch Magnesium, Kobalt, Nickel, Mangan, Cadmium und

Kupfer, in höheren Konzentrationen auch Calcium, Strontium, Aluminium, Beryllium, Thorium und Uran. Eine Verwechslung mit Kalium ist aber nicht gegeben, da diese Metalle andere R_f-Werte inne haben. Natriumdithionit eignet sich gut zum Nachweis von Arsen, Antimon, Quecksilber, Silber, Wismut und Kupfer. Arsen weist man am besten auf dem noch feuchten Chromatogramm nach, da es sich ziemlich schnell verflüchtigt. Gesprüht wird mit einer frisch bereiteten, gesättigten wäßrigen Lösung. Blei läßt sich am besten mit Natriumrhodizonat nachweisen. Auch Barium und Strontium können damit identifiziert werden. Die gesättigte wäßrige Lösung muß jeweils frisch angesetzt werden. Es ist ferner sorgfältig darauf zu achten, daß das zu besprühende Chromatogramm neutral oder höchstens ganz schwach sauer reagiert. Bei zu großem Säuregehalt erscheinen die Flecke nicht und lassen sich auch durch nachträgliche Manipulationen — Räuchern über Ammoniak, Sprühen mit Laugen, Sodalösung oder Natriumacetat — nicht mehr sichtbar machen. Anscheinend bildet Blei mit den Zersetzungsprodukten der Rhodizonsäure farblose Salze, die dann auch mit frischem Reagens nicht mehr reagieren.

Diskussion.

Über die physikalischen Grundlagen der Papierchromatographie herrscht bis heute keine einheitliche Anschauung[5, 6, 7]. Von den in Frage kommenden Möglichkeiten: Oberflächenadsorption, Austauschadsorption und Verteilung zwischen zwei flüssigen Phasen wird letztere bevorzugt zur Deutung herangezogen. Es ist jedoch naheliegend, daß es sich zumindest bei der Papierchromatographie mit einem unbegrenzt wassermischbaren Lösungsmittel nicht um eine Verteilung zwischen zwei flüssigen Phasen handeln kann. Cramer[6] wendet zwar dagegen ein, daß auch bei „einphasigen" Lösungsmitteln ein Wasserzusatz erforderlich ist und folgert daraus die Bildung einer „Hydrathülle" an der gequollenen Cellulose, die als stationäre Phase fungieren soll. Abgesehen davon, daß brauchbare Lösungsmittel keineswegs Wasser enthalten müssen (vgl. S. 254), kann die Quellung der Cellulose ebenso gut als adsorptionsaktivierender Vorgang ausgelegt werden. Bekannt ist die negative Aufladung der gequollenen Cellulose in Berührung mit wäßrigen Medien[11]. Wesentlich einfacher gestaltet sich die Erklärung, wenn man als Reaktionsmechanismus eine Verteilung zwischen flüssiger und fester Phase in Betracht zieht. Die Annahme ist um so mehr berechtigt, als es beispielsweise möglich ist, Kupfer, Kobalt und Nickel sowie verschiedene Aminosäuren allein mit dest. Wasser voneinander zu trennen. Dies wirft die Frage auf, welche Funktion den organischen Lösungsmitteln neben den zweifellos vorhandenen Adsorptionskräften zufällt. Es ist nun von der Aluminiumoxydsäule her bekannt[12, 30], daß ein hydrophiler Stoff aus

einem Lösungsmittel in der Reihenfolge: Petroläther — Benzol — Chloroform — Äther — Essigester — Aceton — n-Propanol — Äthanol — Methanol — Wasser zunehmend schlechter adsorbiert wird, bzw. in der umgekehrten Reihenfolge Wasser das stärkste, Petroläther das schwächste Elutionsmittel ist. Nimmt man für die Cellulose eine ähnliche Gesetzmäßigkeit an — Parallelen sind immerhin gegeben — so erklärt sich zwanglos, warum ein Stoff bei steigendem Wassergehalt schneller wandert. Auch die Auswirkungen des Wechsels des organischen Lösungsmittelanteils finden dadurch eine einfache Deutung: Mit steigender Kohlenstoffzahl des Alkohols wird die Adsorption erleichtert und dementsprechend sinken die R_f-Werte ab. Die parallel gehende Abnahme der Löslichkeit ist vielleicht überhaupt der tiefere Grund für die obenerwähnte empirische Lösungsmittelreihe fallender Adsorptionsbegünstigung. Mehrfach wurde ja schon darauf hingewiesen, daß die Löslichkeit der Substanz im Lösungsmittel überhaupt ein ganz entscheidender Faktor für die Wanderungsgeschwindigkeit ist. Wie an anderer Stelle noch ausführlich dargelegt wird, nimmt in der Gruppe der Alkali- und Erdalkalimetalle der R_f-Wert parallel mit der im Lösungsmittel lösbaren Salzmenge zu.

Unter den angeführten Gesichtspunkten ist auch der unterschiedliche Einfluß der Säurekonzentration leicht verständlich. Ein Mehr an Säure erhöht demnach sowohl — durch ein erhöhtes Angebot von H^+ — die Elutionswirkung des Lösungsmittels, wie es andererseits die Löslichkeit für verschiedene Salze gleichen Anions verringert. Je nachdem, welche Auswirkung überwiegt, steigt der R_f-Wert entweder an oder fällt ab. Die Art der Säure kann demgegenüber auf die Adsorption keinen Einfluß haben, sofern die Wasserstoff-Ionenkonzentration vergleichbar ist. Die negativ geladenen Anionen treten in keine Wechselbeziehung zum Adsorbens. Sie wandern deshalb auch knapp hinter der Lösungsmittelfront. Unterschiedliche R_f-Werte von Kationen mit verschiedenen Säuren sind ursächlich auf erheblich veränderte Löslichkeitsverhältnisse zurückzuführen.

Für die Abhängigkeit der R_f-Werte von der Papierhärte bietet die Verteilungstheorie keine plausible Erklärung. Als Adsorptionsvorgang gesehen, bedeutet jedoch härteres Papier dichtere Packung des Adsorbenses und damit verkürzte „freie Weglängen" für die Substanz. Da Adsorption und Elution mit endlicher Geschwindigkeit verlaufen, muß sich bei dichterer Packung der Abstand zwischen Lösungsmittelfront und Substanz vergrößern. Bisher ungeklärt ist die Frage, ob es sich im Prinzip um eine Oberflächen- oder Austauschadsorption handelt. An der Aluminiumoxydsäule spielen Austauschvorgänge eine recht erhebliche Rolle[20, 22, 23]. Schwab u. Mitarb. stellten fest, daß für ein gebundenes Kation eine äquivalente Menge an Natrium in Lösung geht, wobei

letzteres anscheinend als Aluminat in der Säule enthalten ist. Auch die Cellulose besitzt funktionelle Gruppen, an denen sich Austauschvorgänge abspielen können. Soweit es sich rechnerisch überblicken läßt, dürfte allerdings austauschbaren Metall-Ionen nur eine sehr untergeordnete Bedeutung zukommen. Nach Grüne[11] enthalten 100 g Papier etwa 55 bis 70 mg Mineralstoffe, vornehmlich Calcium- und Magnesiumverbindungen neben Spuren von Eisen, Silicat und Alkali. Bei einem Quadratmetergewicht von 120 g (Sch. & Sch., Nr. 2043b) entfallen somit etwa 8,4 μg auf 1 cm^2. Nimmt man eine durchschnittliche Fleckengröße von 3,5 cm^2 für 200 μg Substanz an, so stehen dieser also bestenfalls 30 μg Mineralstoffe im Papier gegenüber. In Wirklichkeit ist der austauschbare Anteil noch sehr viel geringer. Bei der Chromatographie von Calcium- und Magnesiumsalzen wäre praktisch überhaupt kein Austauscheffekt zu erwarten. Andererseits kann man sich schlecht vorstellen, daß die Carboxylgruppen der Cellulose in 1 n saurer Lösung noch zur Salzbildung befähigt sind.

Das Auftreten einer zweiten Lösungsmittelfront wurde schon mehrmals beschrieben, fand aber weiter keine Beachtung. Lederer[13] beobachtete die Aufspaltung an einem Lösungsmittel aus Butanol-Salzsäure. Fouassin[10] bei Isobutanol-Salzsäure, frühere eigene Beobachtungen gehen auf Versuche mit Äthanol-Salzsäure, Äthanol-Citronensäure sowie wäßrige und alkoholische Laugenlösungen zurück. Eine „capillaranalytische" Entmischung durch verschieden starke Adsorption der Lösungsmittelbestandteile dürfte noch viel häufiger auftreten, nur ist in den meisten Fällen die Änderung der Lösungsmittelzusammensetzung über die durchwanderte Fläche nicht so augenscheinlich. Beispielsweise zeigen die meisten, mit einem alkalisch-alkoholischen Lösungsmittel entwickelten Chromatogramme abnehmende Basizität mit zunehmendem Abstand von der Flüssigkeitszufuhrkante. Sehr wahrscheinlich spielen solche Sekundärwirkungen der Lösungsmitteladsorption bei der Auftrennung eines Substanzgemisches mitunter eine recht gewichtige Rolle.

Zusammenfassung.

Bei den Vorarbeiten zu einem papierchromatographischen Analysengang wurde an einer Anzahl von Kationen die Beeinflussung der R_f-Werte durch Änderung der Lösungsmittelzusammensetzung sowie andere analytisch und technisch wichtige Faktoren überprüft. Dabei ergab sich:

1. In Lösungsmittelgemischen aus Salzsäure, Methanol und Wasser steigen mit abnehmendem Alkoholgehalt die R_f-Werte der langsam wandernden Kationen stark an. Öfter benützte, ältere Lösungsmittel geben etwas höhere R_f-Werte.

2. Die Erhöhung des Säureanteils im gleichen Lösungsmittelgemisch wirkt sich uneinheitlich aus. Die R_f-Werte der Alkalien und Erdalkalien

fallen stark ab. Bei verschiedenen Kationen nehmen die R_f-Werte etwa proportional der Säurekonzentration zu, während andere ein Minimum durchlaufen.

3. Wird die Salzsäure des obigen Lösungsmittels durch eine andere Säure gleicher Normalität ersetzt, so ergeben sich — soweit keine unlöslichen Salze entstehen — für die meisten Kationen nur geringe Abweichungen der Wanderungsgeschwindigkeit.

4. Mit steigender Kohlenstoffzahl des Alkohols im Lösungsmittel nimmt die Wanderungsgeschwindigkeit der Kationen im allgemeinen stark ab. Die isomeren Alkohole führen mit wenigen Ausnahmen zu gleichen Ergebnissen.

5. Die R_f-Werte der Kationen sind unter den Versuchsbedingungen unabhängig von den begleitenden Anionen. Die Ionen der Salze wandern getrennt.

6. Der R_f-Wert kann von der Substanzkonzentration und großen Mengen anderer Salze beeinflußt werden.

7. Höhere Temperaturen bewirken höhere R_f-Werte.

8. Auf harten Papieren ergeben sich niedrigere R_f-Werte. Bei den Chromatographie-Papieren von Sch. & Sch. fallen die R_f-Werte in der Reihenfolge: Nr. 2043b — Nr. 2040b — Nr. 2045b.

Die Erscheinungen werden als Adsorptionsvorgänge gedeutet.

Literatur.

[1] Barnabas, T., M. G. Badve u. J. Barnabas: Naturwissenschaften **41**, 478 (1954). — [2] Beck, M. T.: Acta chim. Acad. Sci. hung. **1953**, 187. — [3] Block, R. J., R. le Strange and G. Zweig: Paper Chromatography. Academic Press. New York 1952. — [4] Burstall, F. H., G. R. Davies, R. P. Linstead and R. A. Wells: J. chem. Soc. (London) **1950**, 516; vgl. diese Z. **137**, 36 (1952/53). — [5] Craig, L. C.: Analyt. Chemistry **22**, 1346 (1950). — [6] Cramer, F.: Papierchromatographie, 2. Aufl. Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1953. — [7] Decker, P., u. W. Riffart: Chemiker-Ztg. **74**, 273 (1950); vgl. diese Z. **138**, 322 (1953). — [8] Erlenmeyer, H., H. von Hahn u. E. Sorkin: Helv. chim. Acta **34**, 1419 (1951); vgl. diese Z. **137**, 123 (1952/53). — [9] Feigl, F.: Qualit. Analyse m. Hilfe v. Tüpfelreaktionen, 2. Aufl. Akadem. Verlagsgesellsch. Leipzig 1935. — [10] Fouassin, A.: Rev. Fermentat. Ind. aliment. **7**, 195 (1952). — [11] Grüne, A.: Arzneimittel-Forsch. **4**, 34 (1954). — [12] Hesse, G.: Adsorptionsmethoden i. chem. Laborat., de Gruyter. Berlin 1943. — [13] Lederer, M.: Nature (London) **162**, 776 (1948). — [14] Lederer, M.: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **5**, 185 (1951); vgl. diese Z. **136**, 284 (1952). — [15] Pollard, F. H.: Symposion. Analyt. Chemistry. Birmingham 1954; vgl. Angew. Chem. **66**, 685 (1954). — [16] Pollard, F. H., and J. F. W. McOmie: Chromatogr. Methods Inorg. Anal., Butterworth Scient. Public., London 1953. — [17] Pollard, F. H., J. F. W. McOmie and I. I. M. Elbeih: J. chem. Soc. (London) **1951**, 446, 470; vgl. diese Z. **136**, 279 (1952). — [18] Pollard, F. H., J. F. W. McOmie and H. M. Stevens: J. chem. Soc. (London) **1951**, 771, 1863; vgl. diese Z. **136**, 280 (1952). [19] Schleicher, A.: Chem. Age **64**, 743 (1951). [20] Schute, J. B.: Pharmac. Weekbl. **86**, 33 (1951). — [21] Schwab, G.-M., u. G. Dattler: Angew. Chem. **50**, 691 (1937); vgl. diese Z. **120**, 327 (1940); **126**, 109 (1943). — [22] Schwab, G.-M., u. K. Jockers: Angew. Chem. **50**, 546 (1937); vgl. diese Z. **120**, 327 (1940); **126**,

105 (1943). — [23] Schwab, G.-M., u. K. Jockers: Naturwissenschaften **25**, 44 (1937). — [24] Seiler, H., E. Sorkin u. H. Erlenmeyer: Helv. chim. Acta **35**, 120 (1952); vgl. diese Z. **137**, 124 (1952/53). — [25] Sommer, G.: Diss. Univ. München, 1954. — [26] Steel, A. E.: Nature (London) **173**, 315 (1954); vgl. diese Z. **143**, 220 (1954). — [27] Sulser, H.: Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **42**, 376 (1951). — [28] Thaler, H., u. G. Sommer: Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **97**, 345 (1953); vgl. diese Z. **144**, 279 (1955). — [29] Weiss, A., u. S. Fallab: Helv. chim. Acta **37**, 1253 (1954); vgl. diese Z. **145**, 43 (1955). — [30] Zechmeister, L., u. L. von Cholnoky: Die chromatogr. Adsorptionsmethode, 2. Aufl. Springer. Wien 1938. — [31] Zimmermann, G.: diese Z. **138**, 322 (1953).

Dr. G. Sommer, München 23, Leopoldstraße 175.

Aus der Technologischen Abteilung des Pharmazeutischen Instituts der Freien Universität Berlin.

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung von Capsaicin in Drogen.

Von

K. E. Schulte und H. M. Krüger.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Juni 1955.)

Für die quantitative Bestimmung von Capsaicin im spanischen Pfeffer (Capsicum annuum), bzw. im Cayennepfeffer (Chillies). (C. frutescens, C. fastigiatum, C. minimum) und den daraus hergestellten galenischen Zubereitungen sind eine Anzahl von Methoden in Vorschlag gebracht worden, die zum Teil als physiologischer Test die Schärfewirkung des Capsaicins auf die Geschmackspapillen auswerten[1, 5, 9, 10] oder sich auf Farbreaktionen gründen, die das Capsaicin mit Vanadinoxychlorid bzw. Phosphormolybdänsäure[2–4, 6–8] gibt. Keines dieser Verfahren, wie auch die gravimetrische Methode von R. Wasicky u. F. Klein[9], entspricht den Forderungen, die an eine exakte Bestimmungsmethode zu stellen sind. Während die physiologischen Bestimmungsverfahren durch die ihnen anhaftende Subjektivität eine große Fehlerbreite aufweisen, besitzen die chemischen Methoden nicht nur eine zu geringe Empfindlichkeit, sondern stützen sich zum Teil in Ermangelung von Capsaicin auf die entsprechende Farbreaktion mit Vanillin zur Aufstellung der erforderlichen Eichkurve. Außerdem haften beiden Verfahren durch die Art der Drogenextraktion Nachteile an, nicht nur im Hinblick auf eine unzureichende quantitative Erfassung des Capsaicins, sondern auch auf die Umständlichkeit und zeitliche Dauer. Es erübrigt sich, darauf hier weiter einzugehen.

Capsaicin, das sich mit Hilfe der Säulenchromatographie relativ einfach aus dem Drogenmaterial rein darstellen läßt (siehe weiter unten), kuppelt in der Kälte in schwach alkalischer Lösung wie alle Phenole mit aromatischen Diazoniumverbindungen zu Azofarbstoffen. Diese Farbreaktionen sind dann für eine colorimetrische Auswertung geeignet, wenn sie quantitativ verlaufen und wenn außerdem keine Nebenreaktionen auftreten. Die erste Forderung läßt sich durch einen Überschuß des Diazoniumsalzes weitgehend erfüllen. Dieser Überschuß bedingt aber

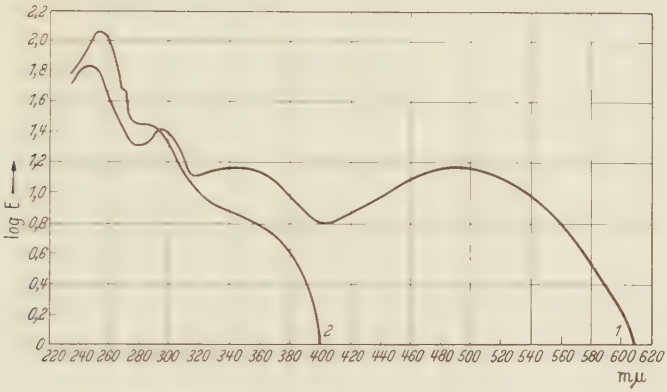


Abb. 1. Absorptionsspektrum des Azofarbstoffes aus Capsaicin und Diazobenzolsulfonsäure (*1*) und der p-Jodbenzolsulfonsäure (*2*) in 96%igem Äthylalkohol.

eine unerwünschte Nebenreaktion, da sich Diazoniumsalze in alkalischer Lösung rasch verändern, unter anderem unter Stickstoffentwicklung in Phenole übergehen, die ebenfalls Azofarbstoffe mit nicht umgesetztem Diazoniumsalz bilden. Es ist deshalb erforderlich, das überschüssige Diazoniumsalz in eine farblose Verbindung zu überführen, bevor diese unerwünschte Nebenreaktion eintritt. Hierzu eignet sich z. B. die Umsetzung mit Natriumjodid in saurer Lösung (Sandmeyer-Reaktion), wobei neben Stickstoff die entsprechende aromatische Jodverbindung entsteht, die farblos ist und eine colorimetrische Auswertung des zunächst gebildeten Azofarbstoffes des Capsaicins nicht mehr stört.

Von den verschiedenen leicht zugänglichen aromatischen Aminen eignet sich unter anderem Sulfanilsäure, deren Diazoniumsalz mit Capsaicin einen roten Farbstoff gibt. Die Kupplung dürfte in ortho-Stellung zur OH-Gruppe erfolgen, da die para-Stellung besetzt ist. Von den theoretisch möglichen beiden Stereoisomeren des Azofarbstoffes (2-Oxy-3-methoxy-5-[8-methylnonen-(6)-säureamidomethyl-]-azobenzolsulfonsäure) entsteht offenbar vorwiegend eine Konfiguration, da zumindest aus dem Absorptionsspektrum keine Anhaltspunkte für das Vorhandensein beider Isomeren gewonnen werden konnten.

Das Absorptionsspektrum des Farbstoffes weist 2 Maxima bei 3500 und 4900 Å auf; für die quantitative Auswertung eignet sich die Messung der Extinktion bei 4900 Å, da bei 3500 Å auch die entstehende Jodbenzolsulfonsäure eine Absorption aufweist (Abb. 1, S. 267).

Für die Durchführung der Farbreaktion hat sich folgende Arbeitsweise als zweckmäßig erwiesen: Das Capsaicin wird in verdünnter Alkalilauge (etwa 0,2 n) oder in Äthylalkohol gelöst — in letzterem Falle wird die Lösung mit verdünnter Alkalilauge alkalisiert. Zu der erhaltenen Lösung wird von einer eisgekühlten ungefähr 0,25 n

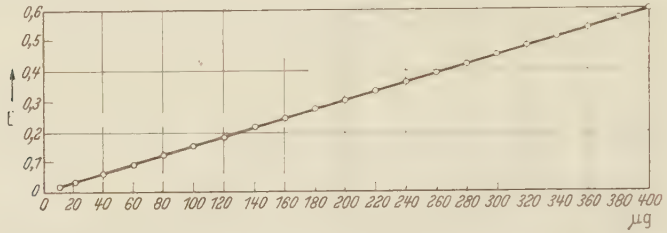


Abb. 2. Die Änderung der Extinktion des Azofarbstoffes aus Capsaicin und Diazobenzolsulfonsäure bei 4900 Å mit der Capsaicinmenge (Eichkurve).

salzsauren Lösung der Diazobenzolsulfonsäure so viel zugegeben, daß das Reaktionsgemisch sauer reagiert. Der Übergang zur sauren Reaktion ist an dem Farbumschlag nach gelb zu erkennen, den der entstandene rote Azofarbstoff im sauren Milieu erleidet. Hierauf wird von einer Natriumjodidlösung soviel zugefügt, daß Natriumjodid — berechnet auf das Diazoniumsalz — in geringem Überschuß vorhanden ist, und kurze Zeit auf 60—70° C im Wasserbad erwärmt. Die jetzt ablaufende Sandmeyer-Reaktion ist an der Stickstoffentwicklung zu erkennen. Ist diese beendet, wird auf Zimmertemperatur abgekühlt und erneut durch Zugabe von verdünnter Natronlauge alkalisch gemacht, worauf die rote Farbe des Azofarbstoffes wieder auftritt, dessen Extinktion bei 4900 Å nach Verdünnen auf ein bestimmtes Volumen im Spektralphotometer oder im Stufenphotometer (Filter S 50) gemessen werden kann.

Die für steigende Capsaicinmengen ermittelten Extinktionswerte sind diesen proportional; ihre graphische Darstellung ergibt eine Gerade (Abb. 2). Die Farbreaktion gestattet noch 5 µg Capsaicin in 1 ml wäßriger alkalischer Lösung, bzw 10 µg in 5 ml alkoholischer Lösung quantitativ zu erfassen.

Neben einer Farbreaktion mit ausreichender Empfindlichkeit ist aber auch die quantitative Isolierung aus dem Drogenmaterial eine weitere wesentliche Voraussetzung für die Bestimmung des Capsaicins. Die hierfür in Vorschlag gebrachten Methoden sind, wie schon angedeutet wurde, wenig befriedigend.

Zweckmäßig fanden wir folgende Arbeitsweise: Ein Glasrohr, wie es für die Säulenchromatographie Verwendung findet, wird mit Aluminiumoxyd und darüber mit frischgeglühter Kohle in gleicher Höhe beschickt* und anschließend die Ad-

* Die gleichen Adsorptionsmittel wurden von G. Schenk[7] kürzlich in Vorschlag gebracht.

sorptionssäule mit Äthylalkohol (96%) unter schwachem Saugen durchfeuchtet. Darauf wird die mittelfein zerkleinerte Droge bis zur fünffachen Höhe der Aluminiumoxyd-Kohle-Säule eingefüllt und anschließend 96%iger Äthylalkohol so lange durch die gesamte Säule gesaugt, bis in dem völlig klar ablaufenden Alkohol kein Capsaicin mehr nachweisbar ist. Auf diese Weise lassen sich alle ebenfalls in Alkohol löslichen Inhaltsstoffe des Drogenmaterials, die die Farbreaktion bzw. ihre Auswertung stören würden, vom Capsaicin, das sich quantitativ im Alkohol befindet, trennen.

Der Verlauf der Extraktion von 1 g Droge mit 250 ml Äthylalkohol ist in der Abb. 3 graphisch dargestellt: das Capsaicin wurde in dem Durchlauf, der in Fraktionen von 5 ml aufgefangen wurde, bestimmt. Die

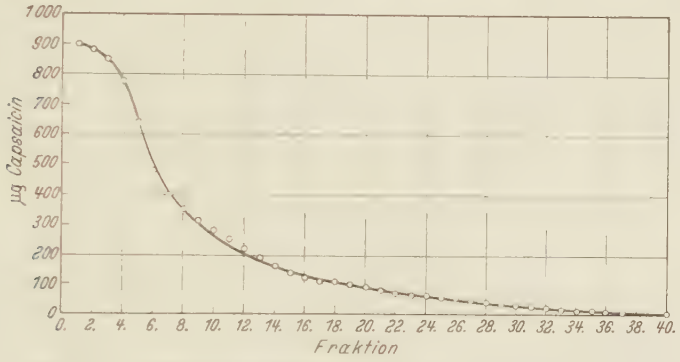


Abb. 3. Der Verlauf der Extraktion von 1 g Droge (0,80% Capsaicin) mit 96%igem Äthylalkohol.

alkoholische Lösung kann nach dem Auffüllen auf ein bestimmtes Volumen unmittelbar zur quantitativen Bestimmung des Capsaicins in der oben beschriebenen Weise verwendet werden.

Zur *Darstellung* größerer Mengen des kristallinen Wirkstoffes können die gleichen Adsorptions- und Lösungsmittel in entsprechend größerer Menge verwendet werden. Der Alkohol wird nach beendeter Extraktion im Vakuum abdestilliert und der Rückstand, der außer Capsaicin noch geringe Mengen farbloser Lipoide enthält, in niedrig siedendem Petroläther in der Wärme gelöst. Beim Abkühlen kristallisiert das Capsaicin aus, das nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Petroläther analysenrein (Fp. 64° C) erhalten wird. An Stelle von Äthylalkohol hat sich für die Isolierung des Capsaicins auch Äthyläther als brauchbar erwiesen.

Arbeitsvorschrift.

Reagentien: 1. Natronlauge (beiläufig 0,2 n), 2. 0,075%ige (0,005 m) Natriumjodidlösung, 3. 0,092%ige (0,005 m) Diazobenzolsulfonsäurelösung (etwa 0,25 n salzsauer): 1 g Sulfanilsäure wird in 15 ml beiläufig 4%iger Natronlauge gelöst, mit 4 ml 10%iger Natriumnitritlösung versetzt und diese Lösung aus dem Scheidetrichter unter Umschwenken langsam in 2,4 ml eisgekühlte 25%ige Salzsäure gegeben. Die ausfallende Diazobenzolsulfonsäure wird abgesaugt (Filter G 3), mit 100 ml Eiswasser, 25 ml

Methanol und 25 ml Äther gewaschen. 0,092 g des trockenen Diazoniumsalzes werden in 100 ml etwa 0,25 n Salzsäure gelöst. Im Eisschrank ist das Reagens 8 Tage haltbar.

Bestimmung: In ein Adsorptionsrohr von 20 cm Länge und 1 cm Weite gibt man zunächst etwas Watte, dann 0,5 g Aluminiumoxyd (Merck) und 0,2 g ausgeglühte Kohle und durchfeuchtet unter Saugen mit der Wasserstrahlpumpe die Säule mit 96%igem Äthylalkohol. Bevor der Alkohol ganz durchgelaufen ist, unterbricht man das Saugen, schichtet 1 g zerkleinerte Droge auf die Säule und deckt sie mit etwas Watte ab. Danach saugt man den Äthylalkohol durch, der aus einem Scheidetrichter so rasch zufließt, daß die Füllung des Rohres damit bedeckt bleibt. 250 ml Alkohol reichen zur vollständigen Extraktion der Droge aus. 5 ml der durchgelaufenen, mit Alkohol auf 250 ml aufgefüllten Lösung werden mit 1 ml ungefähr 0,2 n Natronlauge alkalisiert und dann tropfenweise mit 1 ml Diazobenzolsulfonsäurelösung versetzt. Der Farbton des entstehenden roten Farbstoffs schlägt beim Übergang in das saure Gebiet nach orangegelb um. Dann wird 1 ml Natriumjodidlösung zugegeben, 5 min auf 60 bis 70° C im Wasserbad erwärmt und hierauf mit etwa 0,2 n Natronlauge auf 10 ml aufgefüllt. Anschließend erfolgt die Messung der Extinktion im Spektralphotometer bei 490 mμ oder im Stufenphotometer mit Filter S 50. Als Vergleichslösung dient eine Lösung, die mit 5 ml reinem Alkohol und den gleichen Reagentien bereitet wird.

Zusammenfassung.

Es wird eine Farbreaktion des Capsaicins mit Diazobenzolsulfonsäure beschrieben, die unter Einhaltung bestimmter Bedingungen die photometrische Bestimmung des Capsaicins gestattet. Die quantitative Isolierung des Capsaicins läßt sich durch Adsorptionschromatographie über eine Säule von Aluminiumoxyd und Kohle und Äthylalkohol als Entwicklerflüssigkeit erreichen.

Literatur.

[1] Berry, H., and E. K. Samway: Quart. J. Pharmacy, London **10**, 387 (1937); USP X., Ph. H. V. — [2] Büchi, J., u. F. Hippenmeier: Pharmac. Acta Helvetiae **23**, 327, 363 (1948). — [3] von Fodor, K.: Z. Unters. Lebensmittel **61**, 94 (1931). — [4] Hayden, A., and C. B. Jordan: J. Amer. pharmac. Assoc. **30**, 107 (1941). — [5] Munch, J. C., G. E. Byers and H. J. Pratt: J. Amer. pharmac. Assoc. **23**, 24 (1934). — [6] North, H.: Analyt. Chemistry **21**, 934 (1949); vgl. diese Z. **131**, 402 (1950). — [7] Schenk, G.: Dtsch. Apotheker-Ztg. **95**, 123 (1955). — [8] Tice, L. F.: Amer. J. Pharmacy **105**, 322 (1933). — [9] Wasicky, R., u. F. Klein: Festschrift für Alexander Tschirch, Verlag H. Tauchnitz, S. 357, Leipzig 1926. [10] Wirth, E. H., and E. N. Gathercoal: J. Amer. pharmac. Assoc. **13**, 217 (1924).

Prof. Dr. K. E. Schulte, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 2/4.

Department of Chemistry, Banaras Hindu University, Banaras (India).

Application of the Two Stage Ascorbic Acid-Iodate Titration to the Determination of Iodine and Iodide.

By

G. S. Deshmukh and M. G. Bapat.

(Eingegangen am 11. Juli 1955.)

An earlier communication from these laboratories[1] described a two stage titration of ascorbic acid against iodate. The first end point in about 1 N HCl indicates the reduction of iodate according to the Landolt reaction[3]: $KIO_3 + 3C_6H_8O_6 \rightarrow KI + 3H_2O + 3C_6H_6O_6$, and the second at 4 N or above is the usual iodine monochloride end point for the oxidation of the iodide formed. The titre value of the second end point is $^3/_2$ times that for the first, as the former actually includes the titre for the first end point and the further oxidation of iodide to iodine monochloride. The equivalent weights of iodate are $^1/_6$ and $^1/_4$ its molecular weight for the first and the second end point respectively. The reproducibility and accuracy of the results as also the observation that at low acidity ($\leq$ 1 N) iodine reacts with ascorbic acid, while iodide, undergoing only an intermediate oxidation to iodine, remains virtually unchanged up to the first end point, suggested the possibility of a simultaneous determination of iodine and iodide using the above titration. The procedure has now been described in the present communication.

Experimental.

Iodine solutions of various concentrations were prepared by dissolving approximate amounts of iodine in accurately weighed AnalaR potassium iodide. The strength of these solutions in terms of iodine and iodide were determined by the iodine cyanide procedure[4]). Ascorbic acid solutions were prepared by dissolving appropriate amounts of ascorbic acid (E. Merck) in double boiled distilled water. No special precautious for preservation were taken as standardization prior to the titration of excess ascorbic acid was always carried out under identical conditions.

Aliquot of iodine solution was pipetted out in an iodine flask, to which a known excess of ascorbic acid solution was added till the iodine colour was discharged. 10—15 ml. of carbon tetrachloride were added, and after adjusting the overall HCl concentration to about 1 N, the excess ascorbic acid was titrated against standard iodate solution to the first end point when a drop of excess iodate imparted a purple colour to the organic layer. The acidity was then raised to 5 N or above and the titration was continued till the iodine colour in the organic layer was discharged. This was the second end point. Hydrochloric acid was added during the titration to maintain the acid concentration above 4—5 N. Using the same iodate, a blank titration to the first and the second end point was performed for the standardization

Table 1.

1 ml. 0.1 N $KIO_3 = 0.01269$ gm. Iodine
1 ml. 0.1 N $KIO_3 \equiv 0.006345$ gm. Iodide
Iodine in terms of 0.05 N Iodate $3(a - a')/2$
Iodide in terms of 0.05 N Iodate $(b' - b) - 3(a - a')/2$

Over-all HCl Normality — 1 N (approx.) 1st end point
Over-all HCl Normality — 5-6 N (approx.) 2nd end point
Normality of Iodate 0.075 N 1st end point
Normality of Iodate 0.050 N 2nd end point.

Expt. No.	Iodine solution ml.	Ascorbic acid added ml.	Iodate for ascorbic acid ml. (a)	Iodate for ascorbic acid ml. (b)	Iodate for excess ascorbic acid ml. (a')	Iodate for excess ascorbic acid ml. (b')	Iodine gm. Found (x)	Iodine gm. Taken (x')	Iodide gm. Found (y)	Iodide gm. Taken (y')	Difference x - x'	Difference y - y'
1	10	10	11.50	17.25	6.95	42.90	0.04330	0.04350	0.05973	0.05942	—0.00020	+0.00031
2	15	10	7.50	11.20	2.55	36.40	0.04712	0.04691	0.05640	0.05681	+0.00021	—0.00041
3	10	10	7.50	11.20	0.90	44.90	0.06286	0.06272	0.07551	0.07569	+0.00014	—0.00018
4	20	10	11.50	17.25	3.90	60.70	0.07245	0.07281	0.1070	0.1079	—0.00036	—0.00090
5	20	10	11.50	17.25	2.45	68.80	0.08612	0.08654	0.1205	0.1210	—0.00042	—0.0005
6	15	10	15.00	22.40	5.10	73.10	0.09430	0.09401	0.1135	0.1139	+0.00029	—0.0004

of ascorbic acid. A set of typical results is returned in Table 1, where a and b represent the first and the second end point respectively for the ascorbic acid added, while a′ and b′ are the respective titre values for the direct titration.

The calculations of the amounts of iodine and iodide in terms of iodate are based on the following considerations. For a simple elucidation the strength of iodate may be taken as 0.1 N (M/40) w. r. t. the iodine monochloride end point, or 0.15 N (M/60) for the Landolt reaction[3].

The first end points a and a' represent the reaction $3\,C_6H_8O_6 + KIO_3 \rightarrow 3\,C_6H_6O_6 + KI + 3\,H_2O$ for ascorbic acid added and excess respectively. The difference $(a - a')$ therefore gives the volume of 0.15 N (M/60) iodate for iodine.

The second end point b for ascorbic acid added represents the complete reaction. $KIO_3 \rightarrow KI$; $KI \rightarrow ICl$, while b' includes b and the volume of 0.1 N (M/40) iodate for the oxidation of iodine and iodide to iodine monochloride. The difference $(b' - b)$gives the total of iodine and iodide in terms of 0.1 N (M/40) iodate.

The iodine content in terms of 0.1 N (M/40) iodate is $3\,(a - a')/2$. Consequently the iodide content in terms of 0.1 N (M/40) iodate is given by $(b' - b) - 3\,(a - a')/2$.

The large difference $(b' - a')$ is due to the large amounts of potassium iodide required to prepare a stable iodine solution[6]. Compared with it the difference $(a - a')$ for iodine is small being in terms of a stronger (0.075 N) iodate. It is possible to increase the accuracy of the iodine determination in this procedure by titrations with dilute iodate solutions. Under these conditions, however, the iodate titre value for the second end point (b') is too large rendering the procedure lengthy and tedious. The large titre value (b′) can be reduced by titrating to the second

end point with stronger solutions, after titration to the first end point with dilute iodate solutions, prepared accurately from the stronger iodate. The calculations are then modified by taking into consideration the dilution factor.

Mention may be made of the procedure developed by ERDEY and coworkers[2] for the determination of iodide or iodine (after oxidation to iodate) by the potentiometric titration of the iodate with standard ascorbic acid. A separate titration of iodine against ascorbic acid has to be carried out if both iodine and iodide are to be determined. The potentiometric titration involves the use of mercuric chloride and selenous acid and special precautions are necessary for the preservation of standard ascorbic acid. The present method on the other hand makes use of iodate as a direct primary standard.

Iodate procedures are known in which an excess of reductant is run into the solution of the material (oxidant) to be determined, and the excess is titrated against standard iodate. A blank iodate titration is carried out for the reductant added. The determination of vanadium (V) through iodide is a typical instance[5]. The present procedure is essentially based on the same principle. Its interesting feature is the application of all the four end points obtained under controlled conditions of acidity.

Summary.

An extension of the two stage titration of ascorbic acid against iodate to the determination of iodine and iodide in a solution is described. A known excess of ascorbic acid, standardized against iodate, is added to a mixed iodine and iodide solution and the excess ascorbic acid together with the total iodide is titrated against the same iodate to the two end points under controlled conditions of acidity. The differential method of calculation gives the amount of iodine and iodide with a blank and a direct titration. The accuracy of the results provides a useful evidence for the mechanism suggested for the two stage titration of ascorbic acid against iodate.

Our sincere thanks are due to Professor S. S. JOSHI for kind interest in the work.

References.

[1] DESHMUKH, G. S., and M. G. BAPAT: Z. analyt. Chem. **145**, 255 (1955). — [2] ERDEY, L., A. BODOR and H. BUZÁS: Z. analyt. Chem. **134**, 22 (1951). — [3] LANDOLT, cf. R. E. OESPER: Newer Methods of Volumetric Chemical Analysis, p. 69, Chapman & Hall, London (1938). — [4] LANG, R.: Z. anorg. allg. Chem. **122**, 332 (1922); cf. Z. analyt. Chem. **67**, 42 (1925/26). — [5] SWIFT, E. H., and R. W. HOEPPEL: J. Amer. chem. Soc. **51**, 1366 (1929); cf. Z. analyt. Chem. **87**, 461 (1932). — [6] VOGEL, A. I.: A Text book of Quantitative Inorganic Analysis, p. 415, Longmans, Green & Co., London (1945).

Dr. G. S. DESHMUKH, D. Sc., Chemical Laboratories, Banaras Hindu University, Banaras 5 (India).

Department of Chemistry, Andhra University, Waltair (India).

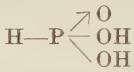
Cerimetric Estimation of Phosphite: Silver Salt Catalysis.

By

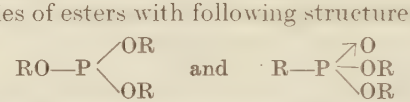
K. Bhaskara Rao and G. Gopala Rao.

(Eingegangen am 12. Juli 1955.)

Although phosphorous acid exists as meta, pyro and ortho acids or as their salts, the ortho acid is the only acid which is of importance. The meta and pyro acids react with water rapidly and get converted to the ortho acid in aqueous solution. Ortho phosphorous acid behaves as a dibasic acid giving salts of the type MH_2PO_3 and M_2HPO_3. The dibasic character of the acid suggests the following formula:



However, two series of esters with following structures are available



In view of this, we have to postulate the existance of the following tautomeric equilibrium:

$$P(OH)_3 \leftrightharpoons HPO(OH)_2$$

which is displaced more towards the dibasic form. The possibility of a tautomeric equilibrium is also supported by the fact that the acid can also be obtained by the hydrolysis of phosphorous trichloride. This tautomeric equilibrium is also believed to control the chemical reactivity of phosphorous acid.

Phosphorous acid and related compounds are receiving considerable practical application in recent years. Sodium phosphite is used as an antidote for mercury poisoning. The phosphites are also used as rodant poisons. Some of the esters of phosphorous acid have come into prominence in recent years as valuable addition compounds to paints in order to impart to them fire proofing qualities. Phosphite esters are also incorporated in termite resisting preparations.

Determination of phosphite.

Phosphorous acid and its salts are strong reducing agents as can be seen from the following equations[7]:

$$H_3PO_3 + H_2O = H_3PO_4 + 2H^+ + 2e^- \qquad E^\circ = 0{,}276$$

$$HPO_3^{-2} + 3(OH)^- = PO_4^{-3} + 2H_2O + 2e^- \qquad E^\circ{}_B = 1{,}12$$

However, phosphorous acid and phosphites react only slowly with most oxidising agents. It is oxidised by ordinary nitric acid. But according to Blaser and Mati[2] no reaction occurs, if the nitric acid is carefully freed from oxides of nitrogen. Moerk[9], Wingler[10], and Manchot and Steinhäuser[8] investigated the determination of phosphorous acid with bromine. According to the latter authors, the reaction is completed in bicarbonate medium in 5 minutes, if an excess of bromine is employed. Iodine oxidises phophorous acid only very slowly in acid medium, according to Wolf and Jung[11] and Kamecki[6]. However, the reaction is reported by Wolf and Jung[11] to be completed in one hour by using excess of iodine in bicarbonate medium. Jones and Swift[5] employed a phosphate buffer in place of the sodium bicarbonate used by Wolf and Jung[11]. Gopala Rao and Gowda[3] found that phosphorous acid is oxidised quantitatively to phosphoric acid by heating with excess of sodium vanadate for 20 minutes in the presence of silver sulphate acting as a catalyst. Potassium permanganate also reacts with phosphite only very slowly.

According to Bernhart[1], phosphorous acid can be oxidised to phosphoric acid completely by boiling for 15 minutes with excess of ceric sulphate in 4.5 N sulphuric acid medium. In an attempt to confirm this work, we have found that the results obtained are variable. Hence a detailed investigation was undertaken, during which it was found that silver sulphate acts as a catalyst for this reaction and that this catalytic effect can be usefully employed in the cerimetric determination of phosphite.

Experimental.

A sample of calcium phosphite supplied by E. Merck has been used in our experiments and its purity was checked by the vanadametric method of Gopala Rao and Gowda[3] and the bromate method of Jenkins and Bruening[4]. The ceric sulphate solution used in the experiments is prepared from a sample of cerous oxalate free from iron but not from other rare earths.

Table 1. *Amount of phosphite taken = 0.2150 millimols.*

Time of reaction hours	Amount of phosphite reacted
1	Nil
6	Nil
12	Nil
24	Nil

Reaction between phosporous acid and ceric sulphate at the room temperature.

In the following experiments, 10 ml. of about 0.02 M phosphite solution is mixed with 10 ml. of about 0.065 N Ce^{4+} solution and 30 ml. of 2.5 N sulphuric acid. The unreacted ceric sulphate was titrated from time to time with standard ferrous ammonium sulphate using ferroin as indicator. The results are presented in table 1.

It is evident from the above table, that at the concentration employed, ceric sulphate does not react with phosphorous acid at the room temperature even in 24 hours.

Reaction of phosphorous acid with ceric sulphate at boiling temperature.

According to Bernhart[1], phosphite is oxidised quantitatively to phosphate when boiled for 15 minutes with excess of ceric sulphate in 4.5 N H_2SO_4 medium. But it has been observed by us that the reaction is not completed by heating the mixture on a water bath even for two hours. Hence experiments have been conducted by heating the reaction mixture directly on an electric hot plate and the results are recorded in the table 2.

Table 2. *Amount of phosphite taken = 0.2154 millimols.*

Amount of ceric sulphate in millimols	Total volume of the reaction mixture in ml.	Time of heating in minutes	Amount of phosphite oxidised in millimols
0.4875	50	30	0.1750
0.6500	50	30	0.1974
0.9750	50	30	0.2150
0.9750	100	30	0.1952
0.9750	100	45	0.2150
0.4875	100	45	0.1754
0.4875	100	30	0.1650
0.9750	50	20	0.2030

It can be seen from the above table, that the oxidation of phosphite to phosphate is completed quantitatively when heated for 30 mts. on the electric hot plate with a sufficient excess of ceric sulphate. It has been observed by us that the temperature of the reaction mixture easily reached 110° C in most of the experiments on the electric hot plate and the high sulphuric acid concentration prescribed helps to the attainment of this high boiling temperature. It should also be noted that the oxidation of phosphite is not completed quantitatively, when the overall ceric concentration and the temperature are below the critical values.

Reaction between ceric sulphate and phosphorous acid catalysed by silver sulphate.

Experiments at the room temperature. In the following experiments conducted at the room temperature, 2 ml. of 5% silver sulphate in concentrated sulphuric acid is used as catalyst in a total volume of 50 ml. of the reaction mixture (table 3).

From these results, it is observed, that, although ceric sulphate does not react with phosphorous acid at room temperature by itself, it reacts slowly in the presence of silver sulphate catalyst. Nevertheless, the reaction is not rapid enough to reach quantitative completion. Hence

experiments were conducted at the boiling water bath temperature. The results are recorded in table 4.

It will be noted from the results (table 4) that phosphorous acid is oxidised quantitatively to phosphoric acid in twenty minutes in the presence of silver sulphate catalyst at the temperature of the boiling water bath.

Table 3. *10 ml.of about 0.02 M phosphite solution + 10 ml. of about 0.065 N ceric sulphate + 2 ml. of 5% silver sulphate + water to make up to 50 ml.*

Amount of phosphite taken = 0.2150 millimols.

Time of reaction hours	Amount of phosphite oxidised in millimols
1	0.0120
3	0.0225
6	0.0425
12	0.0624

Table 4. *10 ml. of about 0.02 M phosphite solution + 10 ml. of about 0.065 N ceric sulphate + 30 ml. of water + conc. H_2SO_4 to keep overall acidity at 2N. Kept on a boiling water bath for varying times.*

Amount of phosphite taken = 0.2185 millimols.

Time of reaction minutes	Amount of phosphite oxidised	
	Without catalyst millimols	With catalyst 2 ml. of 5 percent Ag_2SO_4 millimols
5	0.0116	0.1266
10	0.0190	0.1936
15	0.0392	0.2130
20	0.0663	0.2180
30	0.1050	0.2180
60	0.1268	0.2183
120	0.1822	0.2182

In the absence of the catalyst, the reaction does not reach completion even at the temperature of the boiling water bath, although it does so, when the mixture is directly boiled on an electric hot plate where the solution reaches a temperature of 109—112° C. The latter procedure is very inconvenient as it involves the risk of loss of liquid by bumping. Moreover, there is a possibility of ceric sulphate undergoing slight decomposition at the high temperature of 110° C. In the control experiments conducted, we have found that when 10 ml. of about 0.065 N ceric sulphate is heated with 40 ml. of 6 N sulphuric acid for 30 minutes on an electric hot plate, there is a loss of Ce^{4+} corresponding to 0.1 ml. of about 0.05 N ferrous sulphate. It will also be noted that the reaction in the presence of the catalyst can be completed at a much lower concentration of sulphuric acid, than is otherwise required. Further when the

catalyst is employed a slight excess of ceric sulphate is sufficient, whereas in the absence of the catalyst at least twice as much ceric sulphate is necessary as the amount of phosphite taken. The specific advantage of the catalyst thus becomes evident. A large number of estimations have been made by the catalysed cerimetric method now proposed, and some typical results are recorded in table 5.

Table 5. *X ml. of about 0.02 M phosphite + Y ml. of about 0.065 N ceric sulphate + 2 ml. of 5 percent silver sulphate + water to make the volume upto 50 ml. — Heated on a water bath for 30 minutes.*

Amount of phosphite taken millimols	Amount of phosphite found millimols
0.0546	0.0545
0.1093	0.1093
0.1366	0.1368
0.1639	0.1635
0.1912	0.1908
0.2186	0.2180
0.3279	0.3270
0.4372	0.4356

Our experiments have shown that the concentration of silver sulphate used in the above experiments is about the minimum required.

Summary.

1. The cerimetric method for the estimation of phosphite proposed by Bernhart[1] has been studied in detail. It has been found that irregular results are obtained when the mixture of phosphite, ceric sulphate and sulphuric acid is heated on a boiling water bath. Quantitative results are obtained only when the mixture is carefully boiled on the electric hot plate. This procedure is inconvenient, as the mixture is liable to spurt and bump resulting in losses.

2. We have now found that quantitative results can be obtained even at the temperature of the boiling water bath, if silver sulphate is added to catalyse the reaction. Moreover, when silver sulphate is employed as a catalyst, it is possible to work at a much lower concentration of sulphuric acid and ceric sulphate than proposed by Bernhart[1].

References.

[1] Bernhart, D. N.: Analyt. Chemistry **26**, 1798 (1954). — [2] Blaser, B., and I. Mati: Ber. dtsch. chem. Ges. **64**, 2286 (1931). — [3] Gopala Rao, G., and H. S. Gowda: Z. analyt. Chem. **146**, 167 (1955). — [4] Jenkins, G. L., and C. F. Bruening: J. Amer. pharmac. Assoc. **25**, 19 (1936); cf. Z. analyt. Chem. **112**, 132 (1938). — [5] Jones, R. T., and E. H. Swift: Analyt. Chemistry **25**, 1272 (1953); cf. Z. analyt. Chem. **145**, 66 (1955). — [6] Kamecki, J.: Rocznicki Chem. **16**, 5 (1933). — [7] Latimer, W. M.: The oxidation states of the elements and their potentials in aqueous

solutions. Prentice Hall Inc., New York (1952). — [8] Manchot, W., and F. Steinhäuser: Z. anorg. allg. Chem. **138**, 304 (1924); cf. Z. analyt. Chem. **66**, 17 (1925). — [9] Moerk, F.: Chem. Zbl. **11**, 553 (1889). — [10] Wingler, A.: Z. analyt. Chem. **62**, 335 (1923). — [11] Wolf, L., and W. Jung: Z. anorg. allg. Chem. **201**, 337 (1951).

Prof. G. Gopala Rao, Head of the Department of Chemistry, Andhra University, Naoroji Road, Visakhapatnam-2 (India).

Department of Chemistry, Andhra University, Waltair (India).

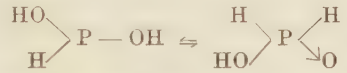
Cerimetric Estimation of Hypophosphite: Silver Salt Catalysis.

By

K. Bhaskara Rao and G. Gopala Rao.

(Eingegangen am 12. Juli 1955.)

As in the case of phosphorous acid, hypophosphorous acid is also believed to exhibit tautomeric equilibrium



Hypophosphorous acid is often used in medicinal preparations as a stabiliser against aereal oxidations. For instance, ferrous iodide syrup, (N. F. VIII) contains in addition to other ingredients 5 ml. of 30—32% hypophosphorous acid in each 1000 mls. of syrup. Hypophosphites are used as ingredients of many B. P. C. and N. F. preparations. In view of the above uses, the determination of hypophosphites is a matter of considerable importance.

Determination of hypophosphite.

From the standard potentials of the following reactions

$$H_2O + H_3PO_2 = H_3PO_3 + 2H^+ + 2e^- \qquad E^\circ = 0.5$$

$$3OH^- + H_2PO_2^- = HPO_3^{-2} + 2\,H_2O + 2e^- \qquad E^\circ{}_B = 1.57$$

hypophosphorous acid must be a powerful reducing agent in both acid and basic solutions. But actually it reacts very slowly with most of the oxidising agents. Even a powerful oxidising agent like potassium permanganate reacts so slowly with hypophosphorous acid in the cold that Kolthoff[6] recommends keeping the mixture for 24 hours for completing the reaction. Pound[8] observed that this reaction does not proceed beyond 96% in the cold even after several days. The reaction with bromine in acid medium is also slow, so that Rupp and Kroll[11] proposed

a reaction time of one hour and Kolthoff[7] recommended a reaction time of three hours, the hypophosphite being completely oxidised to phosphate. Rupp and Finck[10], Raquet and Pinte[9] and Jones and Swift[5] found that hypophosphorous acid is slowly oxidised by iodine in acid medium to phosphorous acid. The reaction requires 3.5—4 hours for completion at the room temperature. According to Jones and Swift[5], hypophosphorous acid does not react with iodine in neutral buffered solution. Gopala Rao and Gowda[3] investigated the reaction between Vanadic acid and hypophosphorous acid from the analytical aspect and found that the reaction can be made to reach quantitative completion at the temperature of the boiling water bath in 20 minutes when catalysed with silver sulphate. Benrath and Ruland[1] appear to have been the first to investigate the reaction between ceric sulphate and hypophosphorous acid. Recently Bernhart[2] reported that ceric sulphate oxidises hypophosphite to phosphite in sulphuric acid solution and that the oxidation is quantitatively complete at the room temperature in 1.5 hours. He reported that no phosphate is formed even when the reaction mixture is kept for 48 hours in the cold. The oxidation is completed in 30 minutes at 60° C, whereas at 80° C and above, some phosphate is always found to be present in the products. Further Bernhart[2] found that hypophosphite is quantitatively oxidised to phosphate by boiling the same with excess ceric sulphate for 15 minutes. In trying to repeat this work, we have experienced some difficulties which have prompted us to investigate the reaction more fully. During the course of this investigation, we have found that silver sulphate catalyses the reaction markedly so that it can be made use of for analytical purposes. The results of our investigations are reported below.

Experimental.

The sodium hypophosphite employed in our experiments is the one supplied by E. Merck, (Germany) and its purity is checked by the Vanadametric method of Gopala Rao and Gowda[3] and the bromate method of Jenkins and Bruening[4]. The ceric sulphate solution used in the experiments is prepared from a sample of cerous oxalate free from iron but not from other rare earths.

Reaction of hypophosphorous acid with ceric sulphate at boiling temperature.

Bernhart[2] reported quantitative oxidation of hypophosphorous acid to phosphoric acid in experiments, where the hypophosphorous acid is boiled for 15 minutes with twice as much ceric sulphate in 4.5 N sulphuric acid medium. However, we have found that the reaction does not reach quantitative completion by heating the mixture in a boiling water bath even for two hours. Hence experiments have been carried out by heating the reaction mixture directly on an electric hot plate and the results are recorded in the table 1.

It has been noticed that in most of the experiments on the hot plate the temperature easily reached 110° C: with the temperature maintained at this value and with the ceric sulphate maintained at a sufficiently high

Table 1. *Amount of hypophosphite taken = 0.1285 millimols.*

Amount of ceric sulphate millimols	Total volume ml	Time of heating minutes	Amount of hypophosphite oxidised millimols
0.6500	50	30	0.1085
1.1375	50	30	0.1280
1.3000	50	30	0.1282
1.3000	100	30	0.1075
0.6500	100	30	0.1025
0.6500	100	45	0.1065
1.3000	100	45	0.1280
1.1375	50	20	0.1210

Table 2. *10 ml. of about 0.01 M hypophosphite solution + 10 ml. of about 0.065 N ceric sulphate solution + water to make up to 50 ml. and acid to keep the overall acidity at 2 N. — Kept on a water bath for varying times.*
Amount of Hypophosphite taken 0.1183 millimols.

Time of reaction minutes	Amount of hypophosphite oxidised without catalyst millimols	with catalyst 2 ml of 5% silver sulphate millimols
5	0.0568	0.08830
10	0.0621	0.1005
15	0.0635	0.1180
20	0.0662	0.1180
30	0.0704	0.1180
60	0.0815	0.1180
120	0.0989	0.1180

value, the hypophosphorous acid is completely oxidised to phosphoric acid in 30 minutes. If, however, the overall ceric concentration or the temperature is below the respective critical value the oxidation does not reach quantitative completion. It may also be noted in this connection that the concentration of sulphuric acid recommended helps to bring up the temperature to 110° C. Heating on the hot plate is very inconvenient because the solution bumps and spurts often resulting in loss of liquid. Moreover, there is a possibility of ceric salt undergoing a slight decomposition at the high temperature of 110° C (See p. 277).

Catalysed reaction of hypophosphorous acid with ceric sulphate at the temperature of the boiling water bath.

It has already been stated above that the uncatalysed reaction beween hypophosphorous acid and ceric sulphate is not completed even

at the temperature of boiling water bath, even after 2 hours' heating employing an overall acid concentration of 5 N. We have now found that the reaction can be completed at the boiling water bath temperature in 20 minutes even at an acid concentration of 2 N, provided silver sulphate is employed as catalyst. The results are given in the table 2 (p. 281).

In view of these findings, a large number of estimations have been carried out by using this catalysed cerimetric method and some typical results are recorded in the table 3.

Table 3. *X ml. of about 0.01 M hypophosphite + y ml. of about 0.065 N ceric sulphate + 2 ml. of 5% silver sulphate + water to make up to 50 ml. — Heated in a water bath for 30 minutes.*

Amount of hypophosphite taken millimols	Amount of hypophosphite found millimols
0.0295	0.0295
0.0591	0.0590
0.0887	0.0889
0.1183	0.1180
0.1479	0.1480
0.1774	0.1768
0.2070	0.2061
0.2366	0.2355

The concentration of the silver sulphate employed in the above experiments is about the minimum required.

Summary.

1. The cerimetric method for the estimation of hypophosphite proposed by Bernhart[2] has been studied in detail. It has been found that irregular results are obtained when hypophosphite solution is heated with ceric sulphate and sulphuric acid on a boiling water bath. Quantitative results are obtained only when the mixture is carefully boiled on an electric hot plate. This procedure is inconvenient as it involves loss of liquid due to bumping and spurting.

2. We have now found that quantitative results are obtained even at the temperature of the boiling water bath, if silver sulphate is added to catalyse the reaction. Moreover, when the catalyst is used, it is possible to work at a much lower concentration of sulphuric acid and ceric sulphate than proposed by Bernhart[2].

References.

[1] Benrath, A., and K. Ruland: Z. anorg. allg. Chem. **114**, 267 (1920). — [2] Bernhart, D. N.: Analyt. Chemistry **26**, 1798 (1954). — [3] Gopala Rao, G., and H. S. Gowda: Z. analyt. Chem. **146**, 167 (1955). — [4] Jenkins, G. L., and C. F. Bruening: J. Amer. pharmac. Assoc. **25**, 19 (1936); cf. Z. analyt. Chem. **112**, 132

(1938). — [5] Jones, R. T., and E. H. Swift: Analyt. Chemistry **25**, 1272 (1953); cf. Z. analyt. Chem. **145**, 66 (1955). — [6] Kolthoff, I. M.: Z. analyt. Chem. **69**, 36 (1926). — [7] Kolthoff, I. M.: Pharmac. Weekbl. **53**, 913 (1916). — [8] Pound, J. R.: J. chem. Soc. (London) **1942**, 307. — [9] Raquet, D., and P. Pinte: J. Pharmac. Chim. **18**, 5 (1933). — [10] Rupp, E., and A. Finck: Arch. Pharmaz. **240**, 665 (1902). — [11] Rupp, E., and Kroll: Arch. Pharmaz. **249**, 493 (1911); cf. Z. analyt. Chem. **55**, 310 (1916).

Prof. G. Gopala Rao, D. Sc., Head of the Department of Chemistry, Andhra University, Naoroji Road, Visakhapatnam-2 (India).

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie.

IV. Spezielle analytische Methoden.

1. Auf Lebensmittel und Gesundheitspflege bezügliche.

Zur Fettbestimmung in Kindermehlen schlagen R. Lehner und A. Estoppey[1] eine Änderung der Roese-Gottlieb-Methode vor. Die Stärke wird in neutraler Lösung durch Diastase abgebaut, dann erfolgt die Fettextraktion in ammoniakalischer Lösung. Das Verfahren liefert auf etwa 1% (relativ) genaue Werte. — *Ausführung.* 1 g Kindermehl wird im Extraktionskölbchen mit 0,1 g Diastase und 8 ml lauwarmem destilliertem Wasser gemischt und 2 Std im Wasserbad bei 60—65° C gehalten. Das Ende der Reaktion wird an dem Ausbleiben der Blaufärbung mit 0,05 n Jodlösung erkannt. Aus der erkalteten Lösung wird das Fett wie folgt extrahiert. Die verzuckerte Lösung wird mit 1,5 ml Ammoniumhydroxydlösung (25%ig) und 10 ml Äthylalkohol gemischt (30 sec schütteln!). Nach Zusatz von 25 ml Äthylather schüttelt man 2 min kräftig durch, gibt 25 ml Petroläther (Kp. 30 bis 60° C) zu und schüttelt 2 min vorsichtig um. Nach dem Zentrifugieren bringt man die Fettlösung in ein gewogenes Becherglas und extrahiert den Rückstand erneut, indem man ihn mit 3 ml Äthylalkohol 30 sec schüttelt, dann mit 25 ml Äther und anschließend mit 25 ml Petroläther in der vorher beschriebenen Weise behandelt. Die vereinigten Fettauszüge werden nach dem Abdunsten der Lösungsmittel bei 102°—103° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. J. Koch.

Zur Bestimmung des Gehaltes von Speisefetten und -ölen an Unverseifbarem und Gesamtsterinen empfehlen H. Hadorn und R. Jungkunz[2] die folgende *Arbeitsweise.* — 1. *Unverseifbares*[3]. Man versetzt 20 g Öl oder Fett mit 7 g KOH-Plätzchen und 40 ml 90%igem Alkohol und kocht 1 Std unter Rückfluß. Nach Verdünnen mit 120 ml Wasser und gutem Abkühlen schüttelt man einmal mit 200 ml und 2 mal mit je 150 ml Äthyläther aus. Die vereinigten Ätherextrakte werden abdestilliert. Den Rückstand verseift man nochmals mit 20 ml 0,5 n alkoholischer Kalilauge durch 20 min, verdünnt mit 60 ml Wasser, schüttelt nacheinander mit 150, 80, 80 ml

[1] Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **45**, 183—185 (1954). Lab. Nestlé, Vevey (Schweiz).

[2] Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **45**, 397—401 (1954); Laboratorium VSK, Basel.

[3] Vgl. Hadorn, H., und R. Jungkunz, Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **40**, 61 (1949); vgl. diese Z. **131**, 66 (1950).

Äthyläther aus, destilliert diesen bis auf wenige Milliliter ab und nimmt den Rückstand in 6 ml Aceton auf. Man verdampft dann die Lösungsmittel vollständig und trocknet bei 100° C zur Gewichtskonstanz. — 2. Zur Bestimmung der *Gesamtsterine* löst man das gewogene Unverseifbare in 10 ml Aceton, fügt die dreifache Menge Digitonin zu (gelöst in 80%igem Alkohol) und verfährt weiter nach H. Hadorn und R. Jungkunz[1]. H. Kurtenacker.

Über den Nachweis von Verfälschungen der Butter mit pflanzlichen Ölen mit Hilfe der Bestimmung des Tocopherolgehalts berichten J. H. Mahon und R. A. Chapman[2]. — *Arbeitsweise.* Man schmelzt die Butter bei 60° C aus und filtriert das Butterfett bei 35° C ab. 2,5 g Butterfett werden zu 50 ml in Petroläther gelöst und mit 10 ml Schwefelsäure (60 ml konz. H_2SO_4 werden mit Wasser auf 100 ml verdünnt) 20 sec geschüttelt (Entfernung von Vitamin A und künstlichen Farbstoffen). Man läßt 15 min absitzen, trennt die wäßrige Phase ab und wäscht die Petrolätherlösung zweimal mit je 25 ml Wasser. 50 ml reiner Petroläther werden ebenso behandelt und dienen als Leerwert. 10 ml der Petrolätherlösung werden zur Entfernung von Wassertrübungen mit 0,2 ml Äthanol versetzt und gegen den Leerwert bei 440 mμ colorimetriert. Sollte die Lösung noch trübe sein, so werden weitere 0,2 ml Äthanol hinzugefügt. Der damit erhaltene Extinktionswert wird mit dem Faktor 10,4/10,2 multipliziert. Der kleinere beider Werte wird dann als Korrektur zur Ausschaltung des Carotineinflusses benutzt. — Zweimal je 10 ml der Fettlösung werden in Scheidetrichtern mit je 5 ml 0,04%iger Lösung von $FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$ in Äthanol und 5 ml 0,4%iger 2,2′-Dipyridyllösung in Äthanol geschüttelt. 6 min nach dem Zusatz des Eisenchlorids fügt man 2 ml Wasser hinzu und kehrt den Scheidetrichter 2mal um. 10 min nach dem Eisenchloridzusatz trennt man die alkoholische Schicht ab und filtriert sie unter Vermeidung starker Lichtbestrahlung. Nach 1,5 min (12 min nach dem Eisenchloridzusatz) mißt man die Extinktion der Farblösung bei 515 mμ gegen einen auf gleiche Weise unter Verwendung von reinem Petroläther hergestellten Leerwert. Von dem erhaltenen Wert zieht man den mit 0,26 multiplizierten Extinktionswert (440 mμ) für Carotin ab. Versuche zeigten, daß die korrigierte Extinktion, dividiert durch einen „K-Wert" von 0,00506 die Konzentration des Tocopherols (berechnet als α-Tocopherol) in 0,5 g Butterfett ergibt. Die Eichkurve für α-Tocopherol folgt innerhalb des Bereichs von 10 bis 80 μg/10 ml Petroläther dem Beerschen Gesetz. — *Tocopherolgehalt pflanzlicher und tierischer Fette und Öle* (μg/g): Rohes Sojaöl 1590, raffiniertes und gehärtetes Sojaöl 1515, raffiniertes und desodorisiertes Sojaöl 995, Maisöl 1050, Sonnenblumenöl 1025, handelsübliche Margarineöle 770—1050, Baumwollsamenöl 665, Palmöl 485, Erdnußöl 310, rohes Cocosnußöl 40, raffiniertes und gehärtetes Cocosnußöl 30, Butter 23—50, Speisetalg 15, Schweineschmalz 6. — Butterproben mit 50—60 μg Tocopherol/g können als verdächtig, mit mehr als 60 μg Tocopherol/g als einwandfrei verfälscht angesehen werden. H. Sperlich.

Als Butterstecher (für die Entnahme von Proben zur Butterprüfung) wurden zwei Typen standardisiert[3]: ein kurzer von etwa 356 mm Gesamtlänge für die geschmackliche Prüfung und ein längerer von etwa 623 mm für die chemische Prüfung. Genaue Beschreibung der Konstruktion und Zeichnung sind im Original einzusehen. L. Acker.

---

[1] Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **42**, 451 (1951); vgl. diese Z. **137**, 62 (1952/53).

[2] Analyt. Chemistry **26**, 1195—1198 (1954). Food and Drug Labs., Ottawa (Canada).

[3] Nederl. Melk- en Zuiveltijdschr., **8**, 143—148 (1954). Scient. Committee Standardization Methods for the Analysis of Milk and Dairy Products.

Zur quantitativen Bestimmung von Eigelb in Margarine empfehlen E. Becker und W. Clemens[1] eine Methode, die auf dem papierchromatographischen Nachweis der mit Ninhydrin anfärbbaren Eiweißkomponente des Eigelbs beruht. Die Methode gestattet, sowohl flüssiges als auch trockenes Eigelb quantitativ zu erfassen. Ein Zusatz von Milch bei der Herstellung der Margarine stört die Bestimmung. — *Arbeitsweise.* 40 g Margarine werden in einer 100 ml-Schliff-Pulverflasche mit 20 ml 2%iger NaCl-Lösung auf 50° C erwärmt und 2 Std geschüttelt. Zur Trennung vom Fett erwärmt man wiederum auf 50° C und läßt über Nacht stehen. 0,05 ml der Lösung werden mit einer Mikropipette auf Chromatographierpapier Macherey und Nagel Nr. 61 im Abstand von 5 cm aufgetragen; das trockene Papier wird dann 4mal durch 0,2%ige Ninhydrinlösung (95% Butylalkohol und 5% 2 n Essigsäure) gezogen und anschließend 10 min bei 105° C getrocknet. Die Lichtemission des Chromatogrammfleckens wird sofort im Lange-Leukometer unter Verwendung eines Grünfilters (550 mμ) gemessen und gegen eine Blindprobe verglichen. Der entsprechende Eigelbgehalt wird einer Eichkurve entnommen. Zur Korrektur wird ferner mit Hilfe von 10 μg Glutaminsäure ein Test ermittelt unter vollkommen gleichen Versuchsbedingungen, dessen durchschnittlicher Leukometerwert bei 11,5 liegt. Die Abweichung von diesem Standardwert ergibt den Korrektionsfaktor. Da ein Gehalt an Milch die Bestimmung stört, wird ferner noch ein qualitativer Test zum Nachweis der Milch in Margarine beschrieben. Bei positivem Ausfall ist eine einwandfreie quantitative Bestimmung des Eigelbgehaltes nicht möglich.

Doris Heiligmann.

Ein für den Nachweis und die ungefähre quantitative Bestimmung der Antioxydantien in Speisefetten und Ölen geeignetes Verfahren wird von F. Wenger[2] angegeben. Das Verfahren besteht darin, daß man den Auszug des Fettes oder Öles in 72%igem Alkohol mit Cer(IV)-sulfatlösung bei Raumtemperatur potentiometrisch titriert. Mit Ausnahme der beiden schwefelhaltigen Antioxydantien Tetraäthylthiuramdisulfid und Thiodipropionsäure werden alle anderen Stoffe oxydiert und liefern gute Titrationskurven. Untersucht wurden *2-tert.-Butyl-4-oxyanisol, 3-tert.-Butyl-4-oxyanisol, Propylgallat, Octylgallat, Dodecylgallat, Nordihydroguajaretsäure, Guajac-Harz, Hydrochinon.* Eine Unterscheidung der Antioxydantien untereinander ist nicht möglich, man kann aber noch eine Konzentration von 0,003% gut erkennen, die weit unter den zur Fettstabilisierung vorgeschlagenen Werten von 0,01—0,02% liegt. Alkoholische Auszüge von animalischen und vegetabilischen Fetten, ferner von Erdnuß- oder Sojaöl, sind für die Untersuchung ohne weiteres anwendbar. Andere Öle, vor allem Sesam- und Baumwollsamenöl, außerdem verdorbene (ranzige) Fette, enthalten oxydierbare, alkohollösliche Stoffe und können daher auf die angegebene Art nicht geprüft werden. Für die *Durchführung* der Titration schüttelt man die Lösung von 10 g Fett in 50 ml Petroläther 3mal mit je 25 ml und 1mal mit 60 ml 72%igem Alkohol aus, verdampft die vereinigten alkoholischen Auszüge auf 20 ml und titriert nach einer der üblichen potentiometrischen Arbeitsweisen mit 0,004 n $Ce(SO_4)_2$-Lösung in n Schwefelsäure. Auch die visuelle Titration mit Ferroin als Indicator ist anwendbar.

K. Brodersen.

Im Rahmen einer Untersuchung über die Polarographie von Antioxydantien in Fetten hat J. Baltes[3] die polarographische Bestimmung von Propylgallat, Nordihydroguajaretsäure und Butylhydroxyanisol beschrieben. — Zur *Propyl-*

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **100**, 24—35 (1955). MUAG-Zentral-Lab., Hamburg-Bahrenfeld.

[2] Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **45**, 185—200 (1954). Eidg. Gesundheitsamt, Bern (Schweiz).

[3] Fette u. Seifen **56**, 484—490 (1954). Dtsch. Inst. Fettforschung, Münster i. W.

gallatbestimmung wird z. B. Schmalz, das mit 1% Propylgallat versetzt ist, in Hexan gelöst (10 g in 15 ml), mit Methanol (20 ml 75%ig) geschüttelt und nach dem Absitzen getrennt. Die filtrierte alkoholische Phase (18 ml) wird in Wasserstoffatmosphäre abgedampft, der Rückstand in 10 ml Grundlösung aufgenommen (9,5 ml 0,1 m Kaliumacetat-Eisessiglösung, 0,5 ml 0,1%ige Gelatinelösung) und von + 0,4 bis — 0,3 V gegen die gesätt. Kalomelelektrode polarographiert (Capillarkonstante in Wasser K = 2,665). Die Stufenhöhe ist der Konzentration linear proportional. Das Halbstufenpotential der anodischen Stufe wird mit steigendem p_H-Wert zu negativeren Spannungen verschoben. Zur Auswertung werden daher zweckmäßig auch Blindproben aufgenommen. — *Nordihydroguajaretsäure* muß der geringen Wasserlöslichkeit wegen in mindestens 50%igem Äthanol polarographiert werden. Unter den im übrigen gleichen Bedingungen werden dann in Schmalz sogar etwa 95% der eingesetzten Menge wiedergefunden gegenüber 90% beim Gallat. — *Butylhydroxyanisol* ist an der Tropfelektrode nicht oxydierbar. Es wird an der rotierenden Platinelektrode in der gleichen Grundlösung mit 50% Äthanol von 0 bis + 1,2 V polarographiert, da dann eine gut auswertbare Stufe bei $E_{1/2\ \mathrm{Korr.}}$ = + 0,596 V auftritt (bei p_H 5,72), deren Höhe der Konzentration zwischen 1 und $5 \cdot 10^{-4}$ m des 3-Isomeren linear proportional ist. — Aus den Untersuchungen lassen sich die Redoxnormalpotentiale von Propylgallat zu + 0,760 V, von Nordihydroguajaretsäure zu + 0,782 V und das Normal-Oxydationspotential des 3-tert.-Butylhydroxyanisols zu + 1,180 V ableiten. K. Cruse.

Im Zuge der Standardisierung der Methoden zur Untersuchung von Milch und Molkereierzeugnissen ist auch der *Peroxydasetest* (Storch-*Test*)[1] festgelegt worden, welcher der Prüfung dient, ob Milch eine bestimmte Zeitlang auf eine bestimmte Temperatur erhitzt worden ist. — Je 5 ml der zu untersuchenden Probe werden in zwei sorgfältig gereinigte Reagensgläser pipettiert und mit 2,5 ml einer Pufferlösung (86,5 g Dinatriumphosphat + 1,3 g Citronensäure gelöst zu 1 Liter; p_H = 8,05) versetzt. Eines der Gläser wird erhitzt, bis der Inhalt siedet. Dann werden beide Gläser in einem Wasserbad von 35 ° ± 2° C bis zum Temperaturausgleich gehalten. Nun gibt man (aus einer Tropfenflasche) 6 Tropfen einer 0,5%igen Wasserstoffperoxydlösung zu, mischt durch, versetzt mit 3 Tropfen einer 2%igen wäßrigen Lösung von p-Phenylendiaminhydrochlorid und stellt beide Gläser wieder in das Wasserbad zurück. Nach 30 sec nimmt man beide Gläser aus dem Wasserbad und vergleicht die Farbe der Flüssigkeiten im diffusen Tageslicht. Wenn das Reagensglas mit der nichterhitzten Flüssigkeit eine merklich blauere Farbe als die Flüssigkeit im andern Glas hat, dann wird die Reaktion als positiv bezeichnet. Die Zuverlässigkeit der Reagentien wird geprüft, indem man diesen Test mit roher Milch und dann mit einer Mischung von 1 Teil roher in 20 Teilen gekochter Milch ausführt. Im ersten Falle soll die Reaktion stark positiv sein, im zweiten Falle schwächer, aber auch deutlich positiv. L. Acker.

Die Bestimmung von Lactose in Milchen, die durch Milchsäuregärung verändert sind oder bei denen die Lactose teilweise fermentativ aufgespalten ist, hat I. Saenz Lascano Ruiz[2] eingehend studiert. Selbst bei Milchen, bei denen durch Zusatz von Konservierungsmitteln die mikrobielle Tätigkeit ausgeschaltet ist, können bei längerer Aufbewahrung noch fermentative Aufspaltungen eintreten. In letzterem Falle führt die reduktometrische Bestimmung der Lactose zu falschen Werten, da neben Lactose dann auch noch Glucose und Galactose vorliegen. Selbst wenn man sich mit der Ermittlung der Summe Glucose + Galactose begnügt,

[1] Nederl. Melk- en Zuiveltijdschr. **8**, 136—138 (1954).

[2] Ann. Falsificat. Fraudes **47**, 167—174, 285—305 (1954). Lab. Munic., Paris.

führt die von Verf. ausführlich diskutierte Berechnung, welcher die nach Betrand bestimmte Reduktion gegenüber Fehlingscher Lösung und die in zwei verschiedenen Verdünnungen gemessene Polarisation zugrunde liegen, zu stark schwankenden Werten. Verf. lehnt daher dieses Verfahren ab und schlägt vor, erst papierchromatographisch zu prüfen, ob überhaupt Glucose und Galactose vorliegen. Diese qualitative Prüfung wird im absteigenden Verfahren mit Whatman 4 und Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) vorgenommen. Zum Sichtbarmachen dient Anilinphthalat; beim Betrachten im UV-Licht lassen sich noch 0,1 g der Monosaccharide neben 100 g Lactose erkennen. Ist die Anwesenheit von Monosacchariden auf diese Weise festgestellt, dann wird die nach vollständiger Hydrolyse reduktometrisch bestimmte Menge an Monosacchariden auf Gesamtlactose umgerechnet. Zu diesem Lactosewert fügt man das Gewicht der Milchsäure hinzu, das 1,5 g je Liter überschreitet, um die ursprünglich vorhandene Lactose zu erhalten. — *Arbeitsvorschrift.* In einem 100 ml-Meßkolben werden 20 ml Milch mit 30 ml dest. Wasser, 4 ml 15%iger Kaliumcyanoferrat (II)-lösung und 4 ml 30%iger Zinkacetatlösung versetzt. Man rührt gut um, läßt 2 min stehen, neutralisiert mit n Alkalilauge und fügt dann noch 0,4—0,5 ml dieser Lösung zu. Nach weiteren 5 min gibt man noch 10 ml einer 5%igen Lösung von $BaCl_2$ zu, füllt nach 15 min zur Marke auf und versetzt mit 2 ml dest. Wasser als Korrektur für das Volumen des Unlöslichen. 25 ml des Filtrats werden in einem 100 ml-Kölbchen mit 10 ml etwa 3 n Schwefelsäure versetzt (oder im Falle dichromathaltiger Milchproben mit 3 n Salzsäure, nachdem das Dichromat vorher mit Bariumchlorid entfernt worden ist). Die resultierende Mischung entspricht bei einer Normalität von etwa 0,85 einem p_H-Wert von 0,2—0,25. Diese Mischung wird am Rückflußkühler 4 Std im siedenden Wasserbad erhitzt. Man neutralisiert mit einer Menge an 3 n Alkalilauge, die der zugefügten Menge an Säure äquivalent ist. Man überführt das Hydrolysat in einen 100 ml-Meßkolben und füllt zur Marke auf. Die Bestimmung der Zucker erfolgt nach der Methode von Betrand (Auflösen des nach Behandlung mit Fehlingscher Lösung erhaltenen Cu_2O-Niederschlags in saurer Eisen(III)-sulfatlösung und Bestimmung des Reduktionsäquivalents mit 0,1 n $KMnO_4$-Lösung). Für die Umrechnung auf Monosaccharide bzw. Lactose sind Eichkurven angegeben. Falls die getrennte Erfassung von Lactose und der Summe der Monosaccharide erforderlich ist, wird folgendermaßen verfahren: Es werden die Reduktionswirkungen gegenüber Fehlingscher Lösung *vor* Hydrolyse (ausgedrückt in mg Lactosehydrat, bezogen auf 1 ml Milch $= l$) und *nach* Hydrolyse (ausgedrückt in mg Glucose + Galactose bezogen auf 1 ml Milch $= L'$) bestimmt und für die Berechnung folgende Formeln benützt: Glucose + Galactose $= G = l - L'/0{,}453$ mg/ml Milch, Lactosehydrat $L = L' - G$ mg/ml Milch. L. Acker.

Über eine refraktometrische Bestimmungsmethode von Casein in Milch berichten R. Schober, W. Christ und W. Niclaus[1]. Sie geht auf das Verfahren von J. G. Brereton und P. F. Sharp[2] zurück, bei dem die Refraktion der Natriumcaseinatlösung bestimmt wird. Die Genauigkeit dieses Verfahrens wurde dadurch wesentlich verbessert, daß bei der Abtrennung des Caseins das Filtrieren durch Zentrifugieren ersetzt wurde. — Man pipettiert 25 ml *Magermilch* in ein 60—70 ml fassendes Zentrifugenglas, verdünnt mit Wasser auf das Doppelte, erwärmt auf 40° C und fällt mit etwa 5 ml 0,5 n Acetatpuffer von p_H 4,5. Man zentrifugiert bei etwa 3000 U/min 10 min lang, gießt die Molke ab und wäscht zweimal mit Wasser. Das feuchte Casein wird dann mit Hilfe eines Glasstabes in 8 ml 0,25 n Natronlauge gelöst, in einen 25 ml-

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **99**, 299—302 (1954). Milchwirtschaftl. Lehr.- u. Forsch.-Anst. Wangen/Allgäu.

[2] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **14**, 872 (1942).

Meßkolben übergeführt und mit Wasser aufgefüllt. Die Refraktion wird in dieser Lösung mit dem Eintauchrefraktometer von Zeiss (Prisma I c) gemessen. — Nach Untersuchungen an reinem Casein HAMMARSTEN (Merck), dessen Caseingehalt nach KJELDAHL überprüft worden war, ergab sich zur Berechnung folgende Beziehung: mg Casein = (Refr. Meßwert — Refr. Nullwert)/0,018391, wo Refr. Meßwert = Refraktion der zu untersuchenden Lösung und Refr. Nullwert = Refraktion einer Blindlösung (8 ml 0,25 n Natronlauge zu 25 ml aufgefüllt) bedeuten. — Soll die Methode auf *Vollmilch* angewendet werden, so muß vorher das Fett entfernt werden. Dies gelingt gut durch Schütteln mit Amylalkohol, wenn der Milch vorher Trilon F (BASF Ludwigshafen/Rhein) oder Titriplex III (Merck) [Dinatriumäthylendiamintetraacetat] zugesetzt worden ist. Im 50 ml-Meßkolben werden 5 ml einer 10%igen, gegen Phenolphthalein neutralisierten Trilonlösung mit 25 ml Vollmilch vermischt. Nach Auffüllen auf 50 ml mit Acetatpuffer (p_H 5) pipettiert man davon 30 ml in das Zentrifugenglas, gibt 10 ml Amylalkohol (Merck Nr. 979) zu, schüttelt 1 min kräftig und zentrifugiert. Vom Zentrifugat werden 25 ml in ein auf 30—40° C erwärmtes Gemisch aus 5 ml Acetatpuffer (p_H 4,5) und 1 ml n Essigsäure langsam zugetropft und dann zentrifugiert. Das abgeschiedene Casein wird mit kaltem Wasser, dann mit Alkohol und schließlich mit Wasser von 40° C gewaschen, wie oben beschrieben gelöst und die Refraktion wie angegeben bestimmt. L. ACKER.

Über den Nachweis von Konservierungsmitteln in Schmelzkäse berichten H. MAIR-WALDBURG und W. STURM[1]. — *Arbeitsweise. Zum Nachweis von Oxydationsmitteln wie Kaliumbromat oder Wasserstoffperoxyd* werden 20 g Käse mit 20 ml frischer Stärkelösung verrührt, 5 ml 2 n Schwefelsäure und dann 1—2 Tr. 20%ige Kaliumjodidlösung zugegeben. *Die Identifizierung der Bromsalze* (Bromat oder Bromid) erfolgt, indem man eine schwefelsaure Käselösung mit Sulfit reduziert, zentrifugiert, und zu dem neutralisierten veraschten Zentrifugat zunächst 5%ige Schwefelsäure, dann Chlorwasser und Chloroform zugibt und ausschüttelt. Als unterste Grenze der Nachweisbarkeit wird 10 mg-% bzw. 15 mg-% (bei Bromid) Kaliumbromat und 100 mg-% Wasserstoffperoxyd angegeben. — Zum Nachweis von Salicylsäure, Benzoesäure und Derivaten sowie von Hexamethylentetramin erfolgt zunächst eine Extraktion dieser Stoffe mit Toluol: Man verrührt 25 g Käse mit 20 ml 10%iger Schwefelsäure und 50 ml Wasser, gibt 200 ml Toluol zu und erhitzt 30 min am Rückflußkühler im Ölbad. Anschließend trennt man die wäßrige Phase im Scheidetrichter ab. *Zur Prüfung auf Salicylsäure* schüttelt man mit 5 ml einer 0,5%igen Eisen(III)-chloridlösung in 3%iger Essigsäure aus. (Empfindlichkeit 1 mg-%). Eine vollständige Entfernung der Salicylsäure erreicht man durch abwechselndes Ausschütteln mit Eisenchloridlösung und dest. Wasser, bis keine Violettfärbung mehr auftritt. Der restliche Toluolextrakt wird zum *Nachweis der p-Oxybenzoesäure* 2mal mit je 4 ml 0,1 n Natronlauge ausgeschüttelt und in den vereinigten Extrakten der Nachweis mit Hilfe von MILLONS Reagens durchgeführt (Empfindlichkeitsgrenze 5 mg-%). *Der Nachweis der Benzoesäure* wird im Rest des alkalischen Extraktes vorgenommen. Man dampft hierzu 5 ml in einem 50 ml-Becherglas zur Trockne und führt die MOHLERsche Reaktion durch (Erfassungsgrenze 5 mg-%). Mit Hilfe dieses Nachweises kann auch gleichzeitig auf *p-Chlorbenzoesäure* geprüft werden; dazu wird die Hydroxylaminlösung in einem Reagensglas vorsichtig überschichtet, bei Anwesenheit von p-Chlorbenzoesäure bildet sich dann eine grüne Farbzone aus. — Die Prüfung auf Benzoesäure und Salicylsäure kann auch im Destillat der Wasserdampfdestillation erfolgen. Man verfährt dabei so, daß man das mit verdünnter Schwefelsäure angesäuerte Destillat, das man erhält,

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **100**, 51—54 (1955). Milchwirtsch. Unters.- u. Vers.-Anst., Kempten/Allgäu.

indem man 25 g Käse mit 10 ml 10%iger Schwefelsäure verrührt und das Gemisch einer Wasserdampfdestillation unterwirft, 2mal mit Äther ausschüttelt und die vereinigten Extrakte wie oben beschrieben weiter behandelt. Ferner kann im Destillat auf *Formaldehyd* geprüft werden durch Zusatz von Phloroglucin in alkalischer Lösung (zu 5 ml des Destillats gibt man 3 ml 0,1%ige Phloroglucinlösung und 1,5 ml 10%ige Kalilauge). 5 mg-% Hexamethylentetramin werden als unterste Empfindlichkeitsgrenze angegeben. Als empfindlichere Reaktion wird ferner die Ringreaktion mit Pepton-Eisen(III)-chlorid empfohlen (Empfindlichkeitsgrenze 5 mg-%), bei der zu 10 ml Destillat eine Spatelspitze WITTE-Pepton, 1 Tr. 5%ige Fe^{III}-chloridlösung und vorsichtig 3 ml konz. Schwefelsäure gegeben werden. Eine violette Farbbildung deutet auf Formaldehyd. Noch empfindlicher dürfte allerdings der Nachweis mit Chromotropsäure nach E. BREMANIS[1] sein (d. Ref.).

DORIS HEILIGMANN.

Die Bestimmung der Aminosäuren in „Gammelost", einer norwegischen Käsesorte, *durch Papierchromatographie* untersuchen A. Bae. SVENDSEN und A. JERMSTAD[2]. — Unter Berücksichtigung des beschleunigten Reifevorganges im äußeren Teil des Käses, in welchem sich mehr freie Aminosäuren befinden und der Ammoniakgehalt höher als im inneren Teil ist, werden der Protein-, der Ammoniak- und der Amin-Stickstoff in der 3 cm dicken, braunen Außenschicht und im Mittelteil nach den von S. FUNDER[3] benutzten Methoden bestimmt. — *Arbeitsweise.* 5 g Käse werden im Mörser in 25 ml Wasser zerrieben, in einen Erlenmeyer-Kolben übergeführt, mit 100 ml 95%igem Äthanol gemischt und 1 Std macerisiert. Nach dem Filtrieren wird bei etwa 20° C im Luftstrom auf 3 ml eingedunstet und filtriert. Die Lösungen sind zur Papierchromatographie geeignet und werden auf Whatman-Papier Nr. 1 zur zweidimensionalen Chromatographie angesetzt. 1. Dimension: Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5), auf dem Boden der Kammer 0,05%ige Ammoniaklösung. 2. Dimension: Phenol-Wasser. Zur Trennung von *Ornithin-Lysin* kommen auf den Boden der Kammer Gefäße mit Eisessig und Wasser, zur Trennung von *Leucin-Isoleucin* ein Gefäß mit wassergesättigtem Benzylalkohol. Die luftgetrockneten Chromatogramme werden mit 0,1%iger Lösung von Ninhydrin in 5%igem Eisessig-Butanol besprüht und einige Minuten zur Entwicklung der Färbung bei 110° C belassen. — Ein Schema über die Lage der Aminosäuren in den Chromatogrammen ist in der Originalarbeit einzusehen.

TH. BREYHAN.

Die Methode zur Bestimmung der Alterung von Fischen[4] erweitert H. TRUTTWIN[5] durch neue Angaben über den Einfluß von Lagerzeit, -temperatur und der Jahreszeit der Tötung des Fisches auf den Jodverbrauch seines Fleisches. — Die Grenze der Genießbarkeit liegt bei 13—14 ml der Jodlösung[4]. Unangenehmer Geruch tritt bereits bei 12—13 ml auf. — Zur *Schnellbestimmung* des Jodbedarfs mißt man die Zeit, die 10 ml Jodlösung zur Entfärbung brauchen. Diese soll 24—25 min betragen. Zur Durchführung schüttelt man 1 g Fischfleisch mit 50 ml Wasser und 10 ml Jodlösung (bzw. einer dieser Menge entsprechenden Tablette). Für fette Fische verwendet man statt Wasser ein Aceton-Wassergemisch. Die Methode bewährt sich bei *Dorsch, Schellfisch, Scholle und Wittling* (Merlan).

H. KURTENACKER.

[1] Diese Z. **130**, 44 (1949/50).

[2] Nederl. Melk- en Zuiveltijdschr. **8**, 29—33 (1954). Univ. Oslo (Norwegen).

[3] Dissertation, Univ. Oslo, 1946.

[4] TRUTTWIN, H.: Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **97**, 275 (1953); vgl. diese Z. **145**, 140 (1955).

[5] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **99**, 461—464 (1954). Kgl. Tierärztl. Hochsch. Stockholm (Schweden).

Zur Bestimmung von Fumar-, Äpfel- und Bernsteinsäure in Gärlösungen veröffentlicht N. Lemjakov[1] vereinfachte Methoden, die eine rasche Bestimmung ermöglichen. — *Arbeitsweise.* Bei der Bestimmung der Fumarsäure empfiehlt Verf. die Anwendung der Quecksilber(I)-fumaratmethode direkt aus der Substanz ohne vorherige Extraktion. Mit Hilfe dieser modifizierten Methode konnte eine gute Übereinstimmung mit dem polarographischen Verfahren erzielt werden. Zur Bestimmung der Bernsteinsäure gibt man zu 10 ml Substrat nach Zusatz von 2 ml konz. Salpetersäure unter beständigem Rühren in einer Porzellanschale langsam mit einer Pipette konz. Kaliumpermanganatlösung zu, bis die Farbe ungefähr 1 min nach Zusatz verschwindet. Nach Neutralisation mit einem Überschuß von Calciumcarbonat und Trocknen auf dem Wasserbad fügt man 10 ml dest. Wasser, 10 ml 0,1 n Silbernitratlösung und 15 ml 50%igen Alkohol (Äthyl- oder Methylalkohol) zu. Nach dem Abkühlen wird filtriert und mehrere Male mit 50%igem Alkohol nachgewaschen. In den vereinigten Filtraten wird der Überschuß an Silber-Ionen mit einer 0,1 n Ammoniumthiocyanatlösung und Eisen(III)-sulfat als Indicator bestimmt und daraus der Bernsteinsäuregehalt berechnet. Fumar- und Äpfelsäure stören die Bestimmung nicht. Zur Bestimmung der Äpfelsäure werden zunächst alle drei Säuren zusammen bestimmt und der Äpfelsäuregehalt aus der Differenz errechnet. Man verfährt dabei so, daß man 10 ml der Substanz auf dem Wasserbad mit Calciumcarbonat neutralisiert, zur Trockne eindampft und anschließend 10 ml dest. Wasser, 10 ml 0,1 n Silbernitratlösung und 15 ml 50%igen Alkohol zugibt. Nach dem Abkühlen wird filtriert und wie oben beschrieben titriert.

Doris Heiligmann.

Über die Bestimmung von Fremdfett in Kakao-Erzeugnissen berichtet A. Purr[2] in einer ausführlichen Arbeit. Verf. verfährt so, daß er das durch Extraktion mit Chloroform gewonnene Fett 3mal einer Kältefraktionierung mit Aceton bei — 12° C unterwirft und auf diese Weise mit ungesättigten Glyceriden angereicherte Fraktionen erhält. Zum Nachweis des Fremdfettzusatzes wird die Ausführung von Mikro- und Halbmikromethoden empfohlen, so die Bestimmung des Unverseifbaren, der Säure- und Neutralisationszahl nach Gorbach und der normalen und der partiellen Jodzahl. Zur Bestimmung der Verseifungszahl wird eine Arbeitsvorschrift angegeben. Zahlreiche Untersuchungen an verfälschten und unverfälschten Proben ermöglichten die Zusammenstellung der Abweichungen dieser Kennzahlen bei Zusatz der verschiedensten Fremdfette wie Cocosfett, Witocan, Pflanzentalg und gehärtetem Fett. Zur einwandfreien Beurteilung wird noch ferner die Anwendung von physikalischen Meßmethoden empfohlen, und zwar die Bestimmung der Löslichkeitsunterschiede von Kakaobutter und Fremdfettglyceriden in Aceton, ferner die Bestimmung des Anilinpunktes, der auf der kritischen Lösungstemperatur in Anilin beruht. Zu letzterem Verfahren wird eine einfache Apparatur beschrieben. Mit Hilfe dieser chemischen und physikalischen Methoden ist es möglich, einen Zusatz von 5% Fremdfett und darüber zugesetzte Mengen nachzuweisen. Einzelheiten mögen der Originalarbeit entnommen werden.

In einer weiteren Arbeit berichtet A. Purr[3] über die Anwendung von optischen Analysenverfahren wie Bestimmung der Brechungsindices und Messung der Extinktion zur Erkennung eines Fremdfettzusatzes. Zur Untersuchung dienten die 1. und 3. Glyceridfraktion bzw. die aus diesen Glyceriden gewonnenen Fettsäuren. Als Bezugstemperatur zur Messung der Brechungsindices im Abbe-Refraktometer werden 20 und 40° C angegeben. In einer Tabelle veröffentlicht Verf. die sowohl

[1] Analyt. Chemistry **26**, 1227—1228 (1954). Piedmont College, Demorest, Ga.
[2] Fette u. Seifen **56**, 823—832 (1954). Inst. Lebensm.-techn. u. Verpack., München.
[3] Fette u. Seifen **57**, 120—125 (1955).

bei unverfälschtem als auch bei verfälschtem Schokoladenfett erhaltenen Werte. Ein weiterer Nachweis der Verfälschung kann erbracht werden durch Messung der Extinktion der Glyceride der 3. Fraktion im Zeiss-Opton-Spektralphotometer unter Verwendung von Chloroform als Lösungsmittel. Als Ausgangssubstanz dienten nach F. Emich[1] und nach G. Gorbach[2] gereinigte Fettproben, die in 10%iger Lösung zur Anwendung kamen. Doris Heiligmann.

Das papierchromatographische Verhalten und den Nachweis zahlreicher Phenolkörper, die im Hinblick auf die *Teeanalyse* interessieren, prüfen R. A. Cartwright und E.A.H. Roberts[3]. Ausgehend von einer zweidimensionalen Entwicklungsart mit n-Butanol-Essigsäure-Wassergemisch (4:1:2,2) als erstem, destilliertem Wasser als zweitem Entwickler stellen die Verfasser bei aller guten Trennleistung an Teefraktionen in den R_f-Werten von o- und p-Cumarsäure, Kaffee- und Chlorogensäure merkliche Abweichungen gegenüber Werten von Swain[4] fest. Der Grund wurde in einer besonders starken Säureempfindlichkeit der R_f-Werte gefunden[5], derzufolge hier schon die geringfügigen Spuren, wie sie nach vorheriger Benutzung des Troges mit essigsäurehaltiger Lösung abgegeben werden, genügen, starke Depressionen der R_f-Werte im Vergleich mit neuen (unbenutzten) Trögen, sowie den erwähnten Werten von Swain zu verursachen. Essigsäurekonzentrationen über 2% lassen die R_f-Werte wieder anwachsen, jedoch in nur geringfügigem, analytisch also nicht „empfindlichem" Maße. Die Verf. empfehlen daher die Entwicklung mit 2%iger Essigsäure statt Wasser als zweitem Lösungsmittel. Dies steht im Einklang mit Vorschlägen anderer Autoren, die gleichfalls für Phenole ein leicht saures Medium empfehlen. Zur Sichtbarmachung der Tüpfel kann die Beobachtung im UV-Licht dienen. Die meisten Tüpfel zeigen besonders nach dem Dämpfen mit Ammoniak einen Leuchteffekt. Elf von den 15 Phenolen (Ausnahmen: Phloroglucin, Phloridzin und die beiden Cumarsäuren) reagieren positiv mit dem Reagens von Kirby, Knowles und White[6], das aus 0,3% Eisen(III)-chlorid und 0,3% Kaliumhexacyanoferrat (III) zusammengesetzt ist. Eine schematische Wiedergabe der Tüpfelörter findet man im Original. R. Klockmann.

Die löslichen Gerbstoffe von schwarzem Tee bestehen nach Untersuchungen von Y. Oshima, T. Nakabayashi und S. Ishibashi[7] aus 3 Komponenten, nämlich unoxydierten Catechinen (C), oxydierten Catechinen (O) und Polymeren (P). Die Teequalität hängt von dem Mengenverhältnis der 3 Komponenten ab. Durch gesättigte NaCl-Lösung werden O und P gefällt, C nicht. 10%ige Salzsäure fällt P vollständig, O zum größten Teil. C und O sind dialysierbar, P nicht. Das Tannin kann durch Oxydation mit alkalischer Permanganatlösung bestimmt werden. H. Freytag.

Vitamine. *Die Farbreaktionen zum Nachweis des Vitamins A* unter Verwendung von Metallhalogeniden wurden von K.-H. Wagner, G. Linden und A. Stumpf[8] nachgeprüft und miteinander im Hinblick auf ihre praktische Brauchbarkeit verglichen. Als Maßstab für die Zerfallsgeschwindigkeit des Farbstoffkomplexes wurde

[1] Mikrochem. Praktik, S. 69, München.
[2] Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **31**, 109, 302 (1944).
[3] Chem. and Ind. **1954**, 1389—1391. Indian Tea Assoc., Butlers' Wharf, London.
[4] Biochemic. J. **53**, 200 (1953).
[5] Was möglicherweise auch in anderen Fällen zu beachten ist (der Referent).
[6] J Soc. Leather Trades' Chemists **37**, 283 (1953).
[7] J. agric. chem. Soc. Japan **28**, 614—618 (1954) (Nach engl. Zus. fass. referiert). Kyushu Univ. [Japanisch].
[8] Vitamine u. Hormone **6**, 112—128 (1954). Justus Liebig-Hochschule Gießen.

die Halbwertszeit (HZ) ermittelt, d. h. die Zeit, in der die Extinktion auf die Hälfte des Anfangswertes abgesunken ist. Die Verff. kamen zu folgendem Ergebnis: 1. Carr-Price-*Reagens* (20% Antimon(III)-chlorid in Chloroform). Die Farbreaktion klingt langsam ab (HZ 428—470 sec), so daß bei einer Messung nach 20 sec gut reproduzierbare Werte erhalten werden. 2. *Antimon(V)-chlorid in Chloroform.* 16 bis 20%ige Lösungen ergaben bei Anwendung von 1 ml Reagens für 1 ml Vitaminlösung violette, bei Anwendung von 0,05—0,1 ml blaue Farbtöne (HZ 60—120 sec). Höhere Konzentrationen (bis 90% $SbCl_5$) führten in jedem Fall zu violetten, schnell zerfallenden Farbkomplexen. 3. Knopsches *Reagens*[1] (26 g $SbCl_3$ in 100 ml rauch. Salzsäure gelöst, dann mit 4 g $K_2Cr_2O_7$ versetzt). Schnell zerfallender Farbkomplex (HZ 50 bis 110 sec), der nach 40 sec von Blau nach Violett umschlägt. 4. *2%ige Eisen(III)-chloridlösung in rauchender Salzsäure*[2]. Unbeständiger, nicht meßbarer Farbkomplex. 5. *5%ige Eisen(III)-chloridlösung mit etwas Acetylchlorid und dem gleichen Vol Essigsäureanhydrid* versetzt. Schnell zerfallender Farbkomplex (HZ 80 bis 120 sec), der nach 80 sec von Blau nach Grün umschlägt. — Die Reaktionen 2 bis 5 sind außerdem unempfindlicher als die Reaktion 1. Verf. halten daher die Carr-Price-Reaktion für die sicherste chemisch-physikalische Nachweismethodik von Vitamin A. H. Sperlich.

Zur spektrophotometrischen und colorimetrischen Bestimmung von Vitamin A entwickelten F. Čůta und J. Čelikovský[3] eine Methode, die auf der Messung der mit Chlorsäure erhaltenen blauen Färbung beruht. Das Absorptionsmaximum in Chloroformlösung liegt bei 543 mμ. Das Beersche Gesetz ist nicht erfüllt, doch sind die Abweichungen nicht so groß, daß die Methode bei Anwendung einer Eichkurve nicht richtige Resultate ergäbe. Die Farbe ist etwa 10 min beständig und verblaßt dann allmählich. Vitamin D stört die Bestimmung nicht. Bei Anwendung eines Coleman-Spektrophotometers ist das neue Verfahren ungefähr ebenso empfindlich wie die Methode von A. E. Sobel und H. Werbin[4]. Die erhaltenen Werte stimmen befriedigend mit den nach dem Verfahren von K. H. Coward, F. J. Dyer, R. A. Morton und J. H. Gaddam[5] erhaltenen Zahlen überein. — *Ausführung. Spektrophotometrisch.* Man versetzt 10 ml Vitamin A-Lösung (~ 70 μg in Chloroform) mit 1 ml 59%iger Chlorsäure, zentrifugiert 2 min mit 3000 U./min, um einen aufgetretenen Niederschlag zu beseitigen, und mißt bei 543 mμ gegen Chloroform, das mit der gleichen Menge Chlorsäure geschüttelt und dann zentrifugiert wurde. — *Colorimetrische Bestimmung.* Man erhält einen beständigen Farbstandard durch Lösen von 0,050 g Phenolrot in 100 ml Phosphatpuffer (Clark) von p_H 6,4. Durch Auffüllen von 0,8—5,9 ml dieser Lösung auf 10 ml ergibt sich eine Farbskala, die 20—160 IE Vitamin A in 10 ml Lösung entspricht. Der Farbvergleich erfolgt in Proberöhren (16/160 mm) durch Betrachten von oben. Die Empfindlichkeit ist ebenso groß wie bei dem spektrophotometrischen Verfahren. H. Freytag.

L. Rosner und H. Kan[6] empfehlen zur *Bestimmung von Vitamin A in Margarine* eine Methode, die sowohl die Bestimmung von Vitamin A als auch die von Carotin nebeneinander gestattet. Verff. modifizieren hierzu die Methode nach J. Boldingh

[1] Knop, J.: diese Z. **63**, 96 (1923).

[2] Brüggemann, J., W. Krauss u. J. Tiews: Chem. Ber. **85**, 315 (1952); diese Z. **135**, 241 (1952); **137**, 421 (1952/53).

[3] Chem. Listy **48**, 1346—1350 (1954) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. f. Öle u. Fette, Aussig/Elbe u. Chem.-technol. Hochschule Prag.

[4] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 570 (1946); vgl. diese Z. **129**, 308 (1949).

[5] Biochemic. J. **25**, 1102 (1931).

[6] J. Assoc. off. agric. Chemists **37**, 887—894 (1954). Lab. of Vitamin Technology, Chicago, Ill. (USA).

und J. Drost[1]. — Die Margarine wird zunächst verseift und dann nach der Methode von E. Rice, E. Primm und A. Coombes[2] mit Äther extrahiert. Der Extraktrückstand wird in Petroläther gelöst und über eine Aluminiumsäule, die alkalisch behandelt wurde, chromatographiert. Die Elution erfolgt mit Petroläther, der steigende Mengen Äthyläther bis zu 36% enthält. Der Verlauf der Vitamin A-Zone in der Säule kann mit Hilfe der Antimontrichloridreaktion oder durch Betrachten im UV-Licht sichtbar gemacht werden. Der Extrakt wird vom Lösungsmittel befreit, mit Isopropanol aufgenommen und die Absorption in einem Beckman-Spektrophotometer bei 325 mμ gemessen. Zur Umrechnung in Vitamineinheiten je g Substanz wird die Extinktion (bezogen auf eine 1%ige Lösung) mit 1900 multipliziert. Bei Gegenwart von Carotin kann dieser Farbstoff getrennt von der Säule extrahiert und anschließend ebenfalls colorimetrisch bestimmt werden. Die Methode ergab eine Übereinstimmung von 95—105%. Einzelheiten des Verfahrens mögen der Originalarbeit entnommen werden. Doris Heiligmann.

Ein vereinfachtes Verfahren zur Bestimmung von Vitamin A in Leber von S. R. Ames, H. A. Risley und Ph. L. Harris[3] beruht auf der Extraktion des mit wasserfreiem Natriumsulfat vermahlenen Gewebes mit Äther und Bestimmung des Vitamins mit Antimontrichlorid in einem aliquoten Teil des Extrakts. Es vermeidet also Verseifung, durch die leicht Verluste eintreten können. Das Verfahren ist besonders geeignet in Verbindung mit jener biologischen Methode, die davon Gebrauch macht, daß bei A-vitaminfrei ernährten Ratten die mit der Nahrung verabreichte Menge an Vitamin A sich quantitativ in der Leber wiederfindet. — *Arbeitsvorschrift.* 3—5 g bzw. die gesamte Leber werden in einem Mörser mit dem 3—5fachen ihres Gewichts an wasserfreiem Na_2SO_4 bis zur vollkommenen Trockenheit verrieben. Dieses Pulver wird quantitativ in einen braunen 250 ml-Erlenmeyer-Kolben übergeführt. Genau 100 ml peroxydfreier Äther werden zugefügt und die Flasche wird dann 2 min geschüttelt. Nach Absitzen oder nach Zentrifugieren wird ein aliquoter Teil in ein Rohr des Evelyn-Colorimeters übergeführt, worauf man das Lösungsmittel unter Stickstoff abdampft. Der Rückstand wird in 1 ml Chloroform gelöst, das Rohr in das Colorimeter eingesetzt und nun werden nacheinander zugefügt 2 Tropfen Acetanhydrid und 10 ml einer gesättigten $SbCl_3$-Lösung in Chloroform. Die Intensität der blauen Färbung wird bei 620 mμ gemessen. In Lebern, die weniger als 0,2 μg Vitamin A/mg Leber (entsprechend 5—10 μg/g Lebergewebe) enthalten, lassen sich nach diesem Verfahren allerdings keine befriedigenden Resultate erhalten, da hierbei nach Zugabe von $SbCl_3$-Reagens Trübungen auftreten. Bei dem biologischen Rattentest sind jedoch solche Störungen nicht zu erwarten, da die Lebern mindestens 100—1500 μg Vitamin A enthalten. In weiteren Untersuchungen wurde festgestellt, daß die Anwesenheit von Nichtvitaminen, die in ähnlicher Weise mit dem Reagens sich umsetzen, auszuschließen ist. Durch Vergleich mit andern Verfahren (Ausziehen mit Äther in der Wärme; 3stündige Extraktion nach Soxhlet; Extraktion mit Äther nach Verseifung) wurde gezeigt, daß nach diesem vereinfachten Verfahren die höchsten Werte gefunden werden, während beim Einschalten einer Verseifung die größten Verluste auftreten. L. Acker.

Die Adsorptionsfähigkeit von Aluminiumoxyd für chromatographische Zwecke, besonders für die Bestimmung von Vitamin A, stellen J. B. Wilkie und S. W. Jones[4] nach einer früher von ihnen ausgearbeiteten Methode zur Standardisierung

[1] J. Amer. Oil Chemists' Soc. **28**, 480 (1951).

[2] J. Assoc. off. agric. Chemists **31**, 621 (1948).

[3] Analyt. Chemistry **26**, 1378—1381 (1954). Eastman Kodak Co., Rochester, N.Y.

[4] J. Assoc. off. agric. Chemists **37**, 880—887 (1954). Dept. of Health, Education, Welfare, Washington 25, D. C. (USA).

von Magnesiumoxyd fest[1]. 1 g Al_2O_3 wird in einem 50 ml-Becherglas mit 5 ml Petroläther (P-Ae) übergossen und gerührt. Nach Zusatz einer Lösung von 0,5 mg des Farbstoffes FD & C Gelb Nr. 4 (Buttergelb) in 1 ml P-Ae wird 1 min lang weitergerührt, dann wird der Inhalt des Becherglases mit Hilfe weiterer 10 ml P-Ae rasch auf die Chromatographierröhre von 12 mm Durchmesser mit Glasfritte gespült. Nach Absaugen der P-Ae-Lösung bis zur Trockenheit des Rückstandes werden nochmals 25 ml P-Ae auf die Säule gebracht und durch das Al_2O_3 gesaugt. Nach Auffüllen der vereinigten P-Ae-Lösungen auf ein gemessenes Volumen (V_t) wird von einem aliquoten Teil dieser Lösung (V_{alq}) mittels eines Spektrophotometers bei 438 mμ die Lichtabsorption (A) einer 1 cm dicken Schicht der Farbstofflösung bestimmt. Nach der Formel $([5 \cdot 10^{-4} - 1{,}71 \cdot 10^{-5} \cdot A(V_t/V_{alq})] \cdot 100)/5 \cdot 10^{-4} = \%$ des von 1 g Al_2O_3 adsorbierten Farbstoffes kann dessen Adsorptionsfähigkeit ermittelt werden. $5 \cdot 10^{-4}$ g Farbstoff waren in 1 ml der Testlösung enthalten, $1{,}71 \cdot 10^{-5}$ g Farbstoff entsprechen einer Einheit der Extinktion bei 438 mμ. (Die Zahl sollte vom Analytiker jeweils geprüft werden.)

Die Identität des sogenannten „Lard-Factor" mit Vitamin A beweisen S. R. Ames und Ph. L. Harris[2]. H. Kaunitz, C. A. Slanetz und R. E. Johnson[3] hatten bei der Molekulardestillation von frischem Schweineschmalz einen Stoff gefunden, der zwar die biologischen Eigenschaften von Vitamin A zeigte, den sie aber wegen einiger Unterschiede als ein neues Vitamin, den „Lard-Factor" bezeichneten. Eine erneute Bearbeitung durch die Verff. ergab jedoch, daß Schweineschmalz eindeutig Vitamin A enthält, wie vor allem durch die Übereinstimmung der UV-Absorptionsspektren des dehydrierten Produktes der Molekulardestillation von Schweineschmalz und von Anhydrovitamin A nachgewiesen werden konnte. Demnach ist der „Lard-Factor" identisch mit Vitamin A. K. Söllner.

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung von Thiamin in Arzneimitteln wird von F. J. Bandelin und J. V. Tuschhoff[4] beschrieben. Dabei wird das Thiamin in 33%igem Methanol als Reineckat gefällt, dieses in Aceton gelöst und colorimetrisch bestimmt. Unter diesen Bedingungen ist das Verfahren spezifisch für Thiamin in Gemischen mit anderen B-Vitaminen und in Gegenwart von Zersetzungsprodukten des Thiamins. — *Ausführung.* Zu einer Lösung von 2—5 mg Thiaminhydrochlorid in 10 ml Acetatpufferlösung von p_H 4,5 (114 ml 0,2 n Essigsäure und 86 ml 0,2 n Natriumacetat) gibt man 5 ml einer 2%igen Ammoniumreineckatlösung in wasserfreiem Methanol. Man läßt 30 min stehen, filtriert durch einen Glasfiltertiegel und wäscht das Reineckat 3 mal mit je 3 ml 0,004%iger Ammoniumreineckatlösung aus. Dann löst man das Thiaminreineckat in Aceton, füllt auf 10 ml auf und mißt die Extinktion der Farblösung bei 525 mμ. — Zur Aufstellung der Eichkurve werden je 1, 2, 3, 4 und 5 ml einer Thiaminstandardlösung (500 mg Thiaminhydrochlorid in 500 ml 1%iger Salzsäure) auf dieselbe Weise behandelt. — Tabletten werden gepulvert und 30 min auf dem Dampfbad mit Acetatpufferlösung digeriert. Ein aliquoter Teil des Filtrats wird wie oben behandelt. Kombinationspräparate von Thiamin mit fettlöslichen Vitaminen werden mit Äther extrahiert, worauf das Thiamin aus der ätherischen Lösung mit Acetatpuffer ausgeschüttelt wird. — Die Methode eignet sich nur für Arzneimittel, die außer Thiamin reine

[1] Wilkie, J. B., and S. W. Jones: Analyt. Chemistry **24**, 1409 (1952); vgl. diese Z. **140**, 435 (1953).

[2] Science (Lancaster, Pa,) 391—393 (1954). Eastman Kodak Co., Rochester 3, N. Y.

[3] Federation Proc. **3**, 335 (1950).

[4] Analyt. Chemistry **25**, 1198—1200 (1953). Flint, Eaton Co., Decatur, Ill. (USA).

synthetische Vitamine enthalten. Gewisse heterocyclische Amine und quaternäre Ammoniumsalze geben ebenfalls unlösliche Reineckate. Eisen stört die Bestimmung nicht. H. Sperlich.

R. Pleticha[1] hat die *papierchromatographische Trennung des Thiamins* und seiner verschiedenen Formen bzw. Zersetzungsprodukte auf Whatman Papier Nr. 1 untersucht und festgestellt, daß beste Trenneffekte bei Entwickeln mit der Butanolphase eines Gemisches von n-Butanol-Eisessig-Wasser im Verhältnis 4:1:5 nach dem absteigenden Verfahren bei 15—25° C in 15—20 Std erhalten werden und wenn nach dem Trocknen (frei an der Luft) mit dem Gemisch 1:1 aus 0,1%iger Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung und 10%iger Natronlauge besprüht und im ultravioletten Licht betrachtet wird. An Injektionslösungen (Betuna fortissime, Spofa) werden hierbei 5 Flecken sichtbar, die blau fluorescieren, an frisch bereiteten Thiaminchloridhydrochloridlösungen (bis zu 1 mg enthaltend) nur 4 Flecken, von denen keiner auf die Gegenwart von Thiochrom zurückgeführt werden kann, welches unter den gleichen Bedingungen als gelber Fleck erkennbar und durch einen viel höheren R_f-Wert (0,47 gegenüber maximal 0,37 bei Thiaminlösungen) ausgezeichnet ist. Der eigentlich dem Thiamin zuzuschreibende Fleck hat R_f = 0,20. Er ist gelb gefärbt, fluoresciert blau im UV-Licht, verblaßt am Tageslicht (Übergang in Thiochrom), wird nach Tagen ockergelb (Verharzung durch Lauge zum Thiolsalz), wird mit Bromphenolblau blau (Aminogruppe) und mit Jod braun (flüchtig) gefärbt. Die Identifizierung soll noch polarographisch erhärtet werden. Eine Identifizierung der übrigen 4 Flecke ist noch nicht sichergestellt.

Die Vitamine der B_6-Gruppe Pyridoxin, Pyridoxal, Pyridoxamin, Pyridoxal- und *Pyridoxamin-Phosphat*, sowie *Riboflavin und Nicotinamid und deren Coenzyme* lassen sich nach N. Siliprandi, D. Siliprandi und H. Lis[2] papierelektrophoretisch trennen. Sie werden hierzu am besten auf mit Acetatpufferlösung (p_H 5,1) getränktem Papier (Munktell 20) zwischen Glasplatten mit 3 mA während 6—7 Std elektrolysiert. Das Pherogramm wird zur qualitativen Analyse nach Trocknen bei Raumtemperatur mit einer Lösung aus A:B:C = 1:10:10 besprüht (A = 3,18 g p-Aminoacetophenon und 45 ml konzentrierte Salzsäure in 1 l Wasser, B = 2,25 g Natriumnitrit in 100 ml Wasser und C = 25 g Natriumacetat in 100 ml Wasser) und 10 min bei 50—60° C getrocknet. Alle Formen werden deutlich getrennt als rosa- bis gelbgefärbte Flecken sichtbar. — Zur quantitativen Trennung wird am frei hängenden Papier in geschlossener Kammer elektrolysiert, im UV-Licht identifiziert und nach Elution nach R. C. Brimley und F. C. Barrett[3] bei 325 mμ photometriert. Größere Mengen können vorteilhaft an einer Säule aus Stärke elektrochromatographiert werden nach dem Verfahren von P. Flodin und J. Porath[4]. In reiner Chromatographie werden nur Pyridoxin, Pyridoxal und Pyridoxamin getrennt.

Unter den gleichen Bedingungen können auch Riboflavin und seine Coenzyme getrennt werden (Identifizierung im UV-Licht) oder auch Nicotinamid und dessen Coenzyme. Wird 10 Std elektrolysiert, dann sind sogar Trennungen von Gemischen sämtlicher Verbindungen möglich. Nur Nicotinamid ist dann unsicher nachweisbar. K. Cruse.

Versuche zur papierchromatographischen Trennung der Vitamine der B_6-Gruppe und einiger Derivate führte A. Pusztai[5] aus. Die Versuche ergaben, daß runde

[1] Pharmazie **9**, 734—740 (1954). Forsch.-Inst. Lebensmitteltechnol., Prag.

[2] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **14**, 212—218 (1954). Univ. Uppsala (Schweden).

[3] Practical Chromatography, Chapman & Hall Ltd., London 1953.

[4] Biochim. biophysica Acta **13**, 175 (1954).

[5] Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 323—325 (1954) [Ungarisch]. Akad. Budapest.

Flecken nur dann entstehen, wenn das Lösungsmittelgemisch niedrige Alkohole bis C_3 - bzw. Alkylacetate enthält. Am besten bewährte sich die Mischung von Äthylacetat-Pyridin-Wasser (2:1:2). Obwohl die Unterschiede der Rf-Werte nicht groß sind, gelingt die Trennung. Wegen der Lichtempfindlichkeit der Verbindungen wurden die Versuche im Dunklen ausgeführt; die Chromatogramme wurden bei Raumtemperatur über Nacht getrocknet und unter einer Quarz-Analysenlampe bezeichnet. Hierzu ist das sehr wenig fluorescierende Papier Sch. & Sch. 2043 A am besten geeignet. Zur genauen Bestimmung wurde die zweidimensionale Methode verwendet, wobei zum ersten Anlaufen die schon erwähnte Lösungsmittelmischung, zur Entwicklung im rechten Winkel das Gemisch Propanol – konz. Ammoniak – Wasser (60:10:30) gebraucht wurde. Diese Mischung ist zur Analyse von Phosphaten ebenfalls geeignet, es konnte so Pyridoxinphosphat neben dem verunreinigenden anorganischen Phosphat in 3 Isomere getrennt werden. Schneidet man unter der Quarzlampe die Flecke aus, so kann nach dem Eluieren die Menge der Komponenten nach Hanes und Isherwood bestimmt werden. J. Plank.

Die Bestimmung von Vitamin B_{12} und anderen Cobalaminen in Gemischen nehmen F. A. Bacher, A. E. Boley und C. E. Shonk[1] mit Hilfe radioaktiv markierten Cobalamins vor. Dieses Verfahren ist besonders für Gemische geeignet, aus denen das Vitamin zur Bestimmung nicht quantitativ isoliert werden kann. Die verschiedenen Vertreter der Vitamin B_{12}-Gruppe werden in Cyanocobalamin übergeführt und darauf wird eine bekannte Menge an markiertem Cyanocobalamin zugesetzt. Die sich daran anschließenden Extraktions- und Reinigungsverfahren richten sich nach der Art des Ausgangsmaterials und werden eingehend beschrieben. Im Falle hartnäckig anhaftender, die Absorption störender Begleitstoffe wird eine Gegenstromverteilung in Wasser-Benzol vorgeschlagen. Die Reinheit der Extrakte wird an Hand der Absorptionsverhältnisse verfolgt. Die Absorption wird bei 361 und 548 mμ (beides Maxima) und 430 mμ (Minimum) gemessen. Charakteristisch für Cyanocobalamin ist das Verhältnis der Absorptionen von 361 zu 548 mμ, das zwischen 3,0 und 3,5 liegt, während dasjenige der Absorptionen bei 548 zu 430 mμ 2,4—3,1 beträgt. Durch radioaktive Messungen wird die Menge des zurückgewonnenen radioaktiven Cobalamins bestimmt. Aus der Rückgewinnungsquote und der photometrisch ermittelten Menge an Cyanocobalamin wird der Vitamin B_{12}-Gehalt in der Ausgangsprobe errechnet. Der Anteil an zugesetztem markiertem Cobalamin kann im Hinblick auf die hohe spezifische Aktivität der zur Verfügung stehenden Handelspräparate vernachlässigt werden. L. Acker.

Für die Bestimmung von Vitamin B_{12} in Leber empfehlen K. G. Shenoy und G. B. Ramasarma[2] folgende *Extraktionsmethode*. 1 g homogenisierte frische Leber wird mit 50 ml Wasser und 0,5 ml einer 0,5%igen wäßrigen Suspension von rohem Papain in einem Reagensglas (3,8 · 20 cm) 1 Std auf 60° C erhitzt. Dann setzt man 1 ml einer frisch bereiteten 5%igen Natriummetabisulfitlösung hinzu (zur Stabilisierung des Vitamins B_{12} bei dem nachfolgenden Erhitzen) und leitet 5 min Wasserdampf ein oder erhitzt 15 min auf 90° C, um die Proteine zu koagulieren und die Enzyme zu inaktivieren. Nach dem Abkühlen füllt man auf 100 ml auf und filtriert. — Die Bestimmung der Vitamin B_{12}-Aktivität erfolgte nach der mikrobiologischen Methode der USP XIV mit der Abänderung, daß an Stelle der titrimetrischen Bestimmung eine Trübungsmessung durchgeführt wurde. Diese erfolgte nach 18stün-

[1] Analyt. Chemistry **26**, 1146—1149 (1954). Merck & Co., Inc., Rahway, N. J.
[2] Arch. Biochem. Biophysics **51**, 371—378 (1954). Raptakos, Brett & Co., Ltd., Bombay (Indien).

diger Inkubation bei 37° C durch Messung bei 650 mμ (Coleman-Spektrophotometer, Modell 14). Als Testorganismus wurde Lactobacillus Leichmannii (A.T.C.C. 7830) verwendet. H. Sperlich.

Die Isolierung von Vitamin B_{12} aus Klärschlamm beschreibt H. Sommer[1]. Klärschlamm, der 20—60 μg Vitamin B_{12} in 100 ml bzw. 300—800 μg in 100 g Trockensubstanz enthalten kann, wird nach Zusatz von je 10 mg Kaliumcyanid je kg Schlamm 3 Std im Dampftopf erhitzt und sofort in die 2—3fache Menge 90 Vol%iges Äthanol gegeben, nach längerem Rühren absitzen gelassen und scharf abgesaugt. Das Filtrat wird im Vakuum auf ein Zehntel des angewandten Schlammvolumens eingeengt, das Konzentrat mit Ammoniumsulfat gesättigt und mit seinem halben Volumen n-Butanol ausgeschüttelt. Die auf $^1/_3$ ihres Volumens eingedampfte n-Butanollösung wird über eine nach Isherwood hergestellte Silicagelsäule geleitet, welche das Vitamin reichlich in Form eines dunkelbraunen Ringes adsorbiert. Bei der nun folgenden Eluierung mit methanolwassergesättigtem Butanol (1:1) werden zunächst braune Begleitstoffe entfernt. Das nunmehr als roter Ring vorliegende Vitamin B_{12} wird mit Methanol vollständig eluiert. Das eingedampfte Eluat wird in wassergesättigtem Butanol aufgenommen und ein zweites Mal über Silicagel gereinigt. Die daraufhin anfallende, rein rotgefärbte Methanollösung enthält nahezu reines Vitamin B_{12} mit nur geringen Mengen B_{12}-homologer Substanzen. Das Original enthält die ausführliche Arbeitsvorschrift und Angaben über die zwischen den einzelnen Arbeitsgängen durchzuführenden papierchromatographischen und UV-spektrometrischen Kontrollbestimmungen. K. Söllner.

Zur biologischen Bestimmung von Vitamin B_{12} mit Euglena ist, wie K. Iwamoto und J. Hayashi[2] angeben, die Vorbehandlung des Blutes entscheidend. — 5 ml Blut werden mit 10 mg Natriumoxalat ungerinnbar gemacht. Davon versetzt man 1,0 ml mit 15 ml Phosphatpuffer (p_H 6,5), 0,3 ml Papain-Diastase (2:1) (10 mg/ml) und 1 ml Toluol. Man bebrütet 45 Std bei 37° C, säuert auf p_H 4,8 an, erhitzt 30 min in kochendem Wasserbad, kühlt ab, fällt mit 0,3 ml 10%iger Metaphosphorsäurelösung, füllt auf 20 ml auf und zentrifugiert. Das Überstehende wird auf p_H 6,5 gebracht und mit Euglena angesetzt. Ein Überschuß an Metaphosphorsäure hemmt das Wachstum von Euglena. K. Hinsberg.

A. Crema[3] hat ausführliche Untersuchungen angestellt über die lineare Beziehung zwischen dem Durchmesser des Wachstumshofes und dem Logarithmus der Dosis bei *der Vitamin B_{12}-Bestimmung in biologischem Material mittels Mikroorganismen* (Lactobacillus Dorner bzw. Leichmannii, E. coli mutante 113/3 und Euglena gracilis var. bacillaris). Es besteht eine strenge logarithmische Beziehung zwischen dem Koloniendurchmesser und der vorhandenen Vitaminmenge. Durch mikroskopische Ausmessung des Koloniendurchmessers mit dem Ocularmikrometer lassen sich leicht 2—10 μg Vitamin B_{12} ml ermitteln. Die Empfindlichkeitsgrenze beträgt 0,001 μg ml Vitamin B_{12} (gegenüber z. B. 75 μg/ml bei Methionin). Störungen durch Fremdstoffe lassen sich meist ausschließen. H. Freytag.

Zur Bestimmung von l-Ascorbinsäure in frischen Pflanzen verreibt T. Marx[4] das Untersuchungsmaterial nicht wie üblich mit Sand, weil dadurch Ungenauigkeiten in die Bestimmungen hineingetragen werden, sondern mit Kochsalz. Neben den zur

[1] Vitamine u. Hormone **6**, 134—151 (1954). Anstalt f. Vitaminforsch. u. Vitaminprüf., Potsdam-Rehbrücke.

[2] J. Agric. chem. Soc. Japan **28**, 314—316 (1954) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.-fass. ref.) Shiga Agr. College.

[3] Boll. Soc. ital. Biol. sperim. **29**, 1514—1516 (1953). Univ. Pavia (Italien).

[4] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **99**, 261—264 (1954). Biol. Bds.-Anst. Land- u. Forstw., Berlin-Dahlem.

Ascorbinsäureextraktion verwendeten Säuren (1%ige Salzsäure — 2%ige Metaphosphorsäure oder 2%ige Oxalsäure, 1:4 Vol) scheint auch das Kochsalz die Ascorbinsäureoxydase zu inaktivieren und so zur Vergleichmäßigung der Ergebnisse bei Parallelbestimmungen beizutragen. Zur Zerkleinerung der rohen Pflanzen wurde der schweizerische Turmixapparat benutzt; Laufdauer für einen Ansatz höchstens 1 min. An zahlreichen Kartoffelsorten sowie an Blumenkohl, Wachsbohnen und Äpfeln wurde vergeblich versucht, die von W. K. Schwarze und E. Günther[1] beschriebenen großen Unterschiede zwischen freier und fest an Eiweiß gebundener Ascorbinsäure nachzuweisen. F. Neumann.

Die colorimetrische Bestimmungsmethode von Ascorbinsäure durch Kupplung mit diazotiertem 4-Methoxy-2-nitroanilin[2] kann nach M. Schmall, C. W. Pifer, E. G. Wollish, R. Duschinsky und H. Gainer[3] dadurch allgemeiner anwendbar gemacht werden, daß man den früher verwendeten Äthyl- oder Isopropylalkohol durch n-Butylalkohol und Äther ersetzt. Es ist auf diese Art möglich, von störenden Stoffen zu trennen. — *Ausführung.* 2 ml des Aminoreagenses und 2 ml des Nitritreagenses[2] werden in einen mit Glasstopfen verschließbaren 250 ml-Erlenmeyer pipettiert. Man schüttelt um, bis die Orangefärbung verschwunden ist, fügt dann 75 ml n-Butylalkohol und die Probelösung mit 0,5—2 mg Ascorbinsäure zu und schüttelt gut durch. Man setzt nun 5 ml 0,5%ige Oxalsäurelösung zu, wenn die Probe nicht von vornherein in 0,5%iger Oxalsäurelösung gelöst worden war. Das Gemisch wird wenn nötig in einen Scheidetrichter filtriert, 25 ml 10%ige Natronlauge und 150 ml Äthyläther werden zugefügt, worauf man gut durchschüttelt. Die untere Phase wird in einen 200 ml-Meßkolben abgelassen und die Lösung im Scheidetrichter 3mal mit je 15 ml 10%iger Natronlauge gewaschen. Die vereinigten Extrakte werden mit Wasser zur Marke aufgefüllt. 2 Standard- und eine Blindprobe werden unter den beschriebenen Bedingungen mit angesetzt und wie die Analysenprobe bei 570 mμ photometriert. Die modifizierte Methode wurde mit Erfolg auf *Milch, Milchpulver und Kraftfutter* angewendet. Ferner wird die Bestimmung für *biologische Flüssigkeiten* wie *Harn und Blutserum* empfohlen. H. Pohl.

Über den gleichzeitigen papierchromatographischen Nachweis von Ascorbinsäure (AS) und Dehydroascorbinsäure (DS) berichtet M. Ulmann[4]. Die p-chr. Entwicklung muß, um Störungen durch Auftreten von unbekannten Oxydationsprodukten zu vermeiden, in Wasserstoffatmosphäre durchgeführt werden (Skizze). Sie kann nach den bekannten Methoden auf- oder absteigend erfolgen, wobei als Entwicklungsflüssigkeit Butanol–Eisessig–Wasser (4:1:5) verwendet wird. Hierbei zeigt AS auf Geßner und Kreutzig 3a-Papier den R_f-Wert 0,38, auf Schleicher und Schüll-Papier 2043b $R_f = 0{,}36$. DS, die von Verf. durch Oxydation von AS mit Luftsauerstoff oder in Äther gelöstem Chinon hergestellt wurde, zeigt auf dem ersten R_f 0,44, auf dem letzten 0,41. Auch bei Anwendung der Rundfiltermethode lassen sich sehr brauchbare Resultate erzielen. Als Sprühmittel kann Silbernitratlösung verwendet werden, die mit AS sofort tiefbraune Flecke liefert, während DS nur langsam unter Reduktion zu Ag reagiert. Beim Besprühen mit Phenylhydrazinlösung werden nur bei Anwesenheit von DS orangegelbe Flecke erhalten, während AS nicht reagiert. Das Original bringt noch einige weitere Nachweisreaktionen. Das beschriebene Verfahren ist auch auf AS- und DS-haltige Pflanzenauszüge anwendbar. K. Söllner.

---

[1] Pharmazie **1**, 153 (1946); **2**, 161 (1947).

[2] Schmall, M., C. W. Pifer und E. G. Wollish: Analyt. Chemistry **25**, 1486 (1953); vgl. diese Z. **146**, 293 (1955).

[3] Analyt. Chemistry **26**, 1521–1522 (1954). Hoffmann-La Roche Inc., Nutley, N. J.

[4] Pharmazie **9**, 523—529 (1954). Inst. Ernährungsforsch. Potsdam-Rehbrücke.

Zur Bestimmung von E-Vitamin gab B. Bencze[1] eine auf der Furter-Meyer-Reaktion[2] fußende photometrische Methode bekannt. Da in Naturstoffen viele die Reaktion störende Verbindungen anwesend sein können, wurde die Methode auf störende Einflüsse geprüft und zur Bestimmung von E-Vitamin in Organen, Milch, Pflanzenölen, Fetten usw. eine photometrische Makro- und eine fluorimetrische Mikromethode ausgearbeitet[3]. Zur *Makromethode* verreibt man gewogene Mengen von Organen mit gewaschenem Seesand (andere Stoffe werden direkt verwendet) und gibt alkoholische Kalilauge und zur Verhinderung der Zersetzung des Tocopherols 0,2—0,3 g Pyrogallol zu. Verseift wird $^1/_2$ bis 1 Std bei 70—80° C. Nach dem Erkalten wird das Gemisch 3mal mit 50—100 ml Petroläther ausgeschüttelt. Die vereinigten Auszüge wäscht man mit Wasser alkalifrei, trocknet mit Natriumsulfat und destilliert aus dem 50 ml-Erlenmeyer-Kolben, in welchem die Farbreaktion erzeugt wird, den Petroläther in kleinen Anteilen ab. Wenn größere Mengen Sterine anwesend sind, nimmt man den Rückstand mit wenig Alkohol auf, fällt mit 1%iger Digitoninlösung die Sterine, filtriert den Niederschlag nach 12 bis 15 Std und wäscht mit eiskaltem Alkohol. Das Filtrat wird mit Alkohol aufgefüllt und ein Anteil zum vollständigen Entfernen des Petroläthers eingedampft. Der Rückstand wird mit 10 ml Alkohol und 1 ml konzentrierter Salpetersäure versetzt und unter Rückfluß 10—15 min gekocht. Nach dem Erkalten füllt man die der Tocopherolkonzentration entsprechend rot gefärbte Lösung mit Alkohol in einem 25 ml-Meßkolben auf und mißt im Pulfrich-Photometer mit Filter S 47. Das Ergebnis wird aus der mit reinen Präparaten bereiteten Eichkurve entnommen. Mit dieser Methode kann man 0,5—20 mg E-Vitamin bestimmen. — *Um geringere Mengen zu erfassen*, wird das Versuchsmaterial wie oben verseift, ausgeschüttelt und der Petroläther abdestilliert, doch ist hier die Entfernung der Sterine überflüssig. Der in Alkohol gelöste Rückstand wird mit 1 ml konzentrierter Salpetersäure unter Rückfluß 10—15 min gekocht, rasch abgekühlt, mit Alkohol in einen Scheidetrichter gespült und mit einem Gemisch von 20 ml Petroläther und 20 ml Wasser geschüttelt. Nach wiederholtem Schütteln wird die mit Natriumsulfat getrocknete Lösung durch eine Säule von aktiviertem Aluminiumoxyd gesaugt und das adsorbierte Tocopherolrot mit 2—3% Alkohol enthaltendem Petroläther eluiert. Das Lösungsmittel wird abdestilliert, der Rückstand am Wasserbad 70—80 min mit 5 ml 1%iger Lösung von o-Phenylendiamin in Essigsäure erwärmt und nach dem Erkalten mit 5 ml Essigsäure, 15—20 ml Petroläther und Wasser in einem Scheidetrichter wiederholt geschüttelt. Die Lösung wird mit Wasser, verdünnter Säure, verdünnter Lauge und wieder Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Phenazinderivat zur Trennung von anderen fluorescierenden Stoffen auf aktivierter Aluminiumoxydsäule adsorbiert. Das Chromatogramm wird mit 20% Benzol enthaltendem Petroläther entwickelt, wobei man im Quarzlicht das Wandern des grünen Ringes beobachtet und diesen mit Benzol-Petroläther 1:1 in einen weiteren Kolben spült. Aus dieser Lösung wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert, der Rückstand in 1—2 ml Butanol gelöst und mit Methanol auf 10 ml ergänzt. Nun wird zu einer Butanol-Methanollösung im Quarzlicht aus einer Bürette so lange eine Standard-Phenazinlösung (20 μg E-Vitamin je ml) zugegeben, bis gleiche Fluorescenz erscheint. Die Methode ist etwa auf 10% genau. J. Plank.

---

[1] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **282**, 152 (1947).

[2] Furter, M., u. R. E. Meyer: Helv. chim. Acta **22**, 240 (1939); vgl. diese Z. **123**, 56 (1942).

[3] Bencze, B.: Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 257—264 (1954). [Ungarisch] (m. dtsch. Zus.fass.) Medizin. Univ., Budapest.

Für die Bestimmung des Gesamt-Tocopherols (I) in Futtermitteln haben J. R. Edisbury, J. Gillow und R. J. Taylor[1] eine Modifikation des Emmerie-Engel-Verfahrens ausgearbeitet, die 5mal empfindlicher als die ursprüngliche Methode ist und eine Genauigkeit von ± 5% besitzt. Die wesentlichen Neuerungen des Verfahrens bestehen darin, daß I durch Adsorption an schwach alkalischem Aluminiumoxyd von anderen reduzierenden Substanzen getrennt und daß der 2,2′-Dipyridyl-Eisenkomplex in wäßrige Lösung übergeführt wird, wodurch man eine stabile Farblösung und niedrige Leerwerte erhält. — *Arbeitsweise.* 5 g der Probe, entsprechend bis zu 40 μg/g I, werden mit 5 ml 60%iger Kalilauge, 25 ml Äthanol und 40—50 mg Gallussäure oder Pyrogallol 30 min unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten schüttelt man einmal mit 100 ml und 3mal mit je 50 ml Äther aus und wäscht dann die vereinigten Ätherextrakte 4mal mit je 50 ml lauwarmem Wasser. Nachdem der Äther in einer inerten Atmosphäre abdestilliert ist, gibt man zu dem Rückstand 2 ml Äthanol und entwässert ihn durch Erhitzen im Kohlendioxydstrom. Dann löst man den Trockenrückstand in Petroläther und verdünnt auf 5 ml. (Von Proben, die unter 40 μgI/g enthalten, werden 10—20 g nach Zusatz von 100 mg Gallussäure oder Pyrogallol 2 Std mit peroxydfreiem Äther oder Aceton extrahiert. Der vom Lösungsmittel befreite Extrakt wird dann wie vorstehend beschrieben verseift.) — Chromatographische Reinigung (s. Abb. 1). Man setzt das Chromatographierrohr mit der unteren Öffnung auf ein Stück Gummi und füllt das untere enge Ende des Rohrs mit 1 g Aluminiumoxyd (10 g aktiviertes Al_2O_3 werden mit 10 ml einer 0,75%igen Natronlauge geschüttelt und unter vermindertem Luftdruck [3—4 cm] erst 1 Std bei normaler Temperatur und dann 45 min im Ölbad bei 135° C stehen gelassen. Man läßt unter Vakuum abkühlen und füllt in ein kleines gut verschlossenes Gefäß ab). Dann entfernt man den Gummiverschluß und läßt das Lösungsmittel unter leichtem Druck abfließen, bis es gerade die Oberfläche der Al_2O_3-Schicht erreicht hat (unterer Markierungsstrich), setzt 1 ml der Lösung des Unverseifbaren hinzu und wiederholt diese Prozedur. Nun gibt man 5 ml einer 36 Vol%igen Lösung von Äther in Petroläther in das Rohr (bis zur oberen Marke) und drückt diese Mischung durch die Säule. Dann eluiert man mit 5 ml Chloroform. — Die Chloroformlösung wird in einer inerten Atmosphäre bis auf etwa 0,5 ml eingeengt, abgekühlt und mit 0,2 ml Eisenchloridlösung (0,2 g krist. Eisen(III)-chlorid werden zu 100 ml in Chloroform gelöst) und 0,5 ml einer 1%igen (Gew./Vol)-Lösung von 2,2′-Dipyridyl in Chloroform versetzt. Man läßt 5 min stehen, setzt 3,6 ml Wasser hinzu und schüttelt kräftig. Dann zentrifugiert man 10 sec mit mäßiger Geschwindigkeit, entfernt die Chloroformschicht mit einer Pipette und zentrifugiert stärker. Ebenso wird ein Leerversuch mit den Reagentien angestellt. Beide wäßrigen Lösungen werden dann in einer 1 cm-Küvette bei 520 mμ gemessen. — Höher oxydierte Carotinoide werden manchmal durch die chromatographische Reinigung

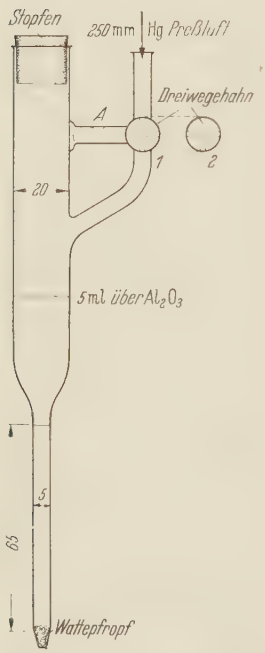


Abb. 1. Apparat zur chromatographischen Isolierung von Tocopherol nach Edisbury u. Mitarb.

[1] Analyst (London) **79**, 617—623 (1954). Unilever Ltd., Port Sunlight, Chesh.

nicht genügend abgetrennt (kenntlich an der orangegelben Farbe des Chloroform-Eluats). In diesem Fall wird ein weiterer aliquoter Teil der Lösung des Unverseifbaren wie vorstehend beschrieben chromatographisch gereinigt. Nachdem das Chloroform unter CO_2 abgedampft ist, nimmt man den Rückstand in V ml Petroläther auf und mißt die Extinktion der Lösung bei 450 mμ (1 cm-Küvette). Dann entspricht $E \cdot V \cdot 12$ der äquivalenten Menge Tocopherol (μg in der verwendeten Menge der Lösung des Unverseifbaren), mit welcher der erhaltene Wert korrigiert wird.

Ein spektrophotometrisches Verfahren zur Bestimmung von Vitamin D in Gegenwart von Vitamin A wird von D. T. Ewing, T. D. Schlabach, M. J. Powell, J. W. Vaitkus und O. D. Bird[1] angegeben. Dabei wird Vitamin D in einem zweistufigen chromatographischen Reinigungsprozeß von anderen unverseifbaren Begleitstoffen getrennt, und zwar werden Vitamin A, verwandte Carotinoide, Pigmente und einige Sterine mit Hilfe von Superfiltrol, Polyene und andere Verunreinigungen mit aktiviertem Aluminiumoxyd entfernt. Die Bestimmung von Vitamin D erfolgt dann durch Messung der UV-Durchlässigkeit bei 265 mμ. — *Arbeitsweise.* Das auf übliche Weise isolierte Unverseifbare aus 1 g Öl wird in 3 ml einer Mischung von 5 Vol Hexan und 1 Vol Äther gelöst und unter Nachspülen mit 3 ml des gleichen Lösungsmittels auf eine 4 cm-Superfiltrol[2]-Kolonne gegeben, die nach den Verfahren von D. T. Ewing u. Mitarb.[3] gepackt und mit 15 ml der Hexan-Äthermischung vorgewaschen ist (1 ml 2,5 min). Man eluiert mit 10 ml Hexan-Äther und dampft das Lösungsmittel bei etwa 45° C und 30—40 mm Druck ab. (Wenn das Verhältnis Vit. A zu Vit. D den Wert 5:1 überschreitet wird eine 6 cm hohe Kolonne verwendet und mit 15 ml Lösungsmittel eluiert.) Der Rückstand wird in 3 ml Hexan gelöst und unter Nachspülen mit 3 ml Hexan auf eine Aluminiumoxyd-Kolonne gegeben, die durch aufeinanderfolgendes Packen von 0,5 g Al_2O_3 (160 mesh) und 3,5 g Al_2O_3 (80 mesh) bereitet und nacheinander mit 10 ml einer 0,6%igen Lösung von Äthanol in Äther und 5 ml Hexan gewaschen ist (1 ml 1,5 min). Man entwickelt nacheinander mit 12 ml Äther-Hexan (7:3) und 2 ml der 0,6%igen Äthanollösung in Äther und verwirft das Filtrat. Dann eluiert man das Vitamin D mit 18 ml der Äthanol-Ätherlösung und dampft das Lösungsmittel bei 45° C und 30—40 mm Druck ab. Der Trockenrückstand wird in soviel Hexan gelost, daß die Extinktion der Lösung bei 265 mμ zwischen 0,250 und 0,450 liegt ($E^{1\%}_{1\,cm}$ von Vit. D = 460). — Die Einzelheiten der Arbeit, die auch Vorschriften zur Reinigung der verwendeten Lösungsmittel enthält, mögen im Original eingesehen werden.

Für die spektrophotometrische Bestimmung von Vitamin D_2 (I) in pflanzlichen Ölen (Arzneizubereitungen) benutzt A. R. Rogers[4] das von J. B. deWitt und M. X. Sullivan[5] angegebene Reagens folgender Zusammensetzung: 20% Antimontrichlorid in Dichloräthylen, dem 2% Acetylchlorid zugesetzt sind. *I* gibt damit eine orangegelbe Farbe (λ_{max} = 500 mμ), die nach 1 min ihre maximale Stärke erreicht und dann langsam verblaßt. Das Unverseifbare pflanzlicher Öle, insbesondere von Arachisöl, bewirkt einen stetigen Extinktionsanstieg, so daß bei der Vitaminbestimmung eine graphische Extrapolation nötig ist. — *Arbeitsweise*: 2,5 g der öligen Lösung von I werden 30 min mit 25 ml frisch bereiteter 0,5 n alkohol. Kalilauge verseift, dann mit 60 ml

[1] Analyt. Chemistry **26**, 1406—1409 (1954). State College, East Lansing, Mich., und Parke, Davis & Co., Detroit 32, Mich. (USA).

[2] Filtrol Corp., 315 WSt., Los Angeles, Calif. (USA).

[3] Ewing, D. T., M. J. Powell, R. A. Brown and A. D. Emmett: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **15**, 301 (1943).

[4] J. Pharmacy Pharmacol. **6**, 780—784 (1954). Allen and Hanburys, Ltd.

[5] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 117 (1946).

Wasser verdünnt und 3mal mit je 50 ml Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherextrakte werden mit zwei 20 ml-Portionen Wasser, 20 ml 0,5 n wäßriger KOH-Lösung, 20 ml Wasser, 20 ml 0,5 n KOH-Lösung und solange mit je 20 ml Wasser gewaschen, bis dieses neutral gegen Phenolphthalein reagiert. Man dampft den Äther auf dem Wasserbad ab, trocknet den Rückstand durch mehrfaches Abdampfen mit je 5 ml Aceton und löst ihn in 15 ml Dichloräthylen. 0,4 ml dieser Lösung werden in einer 1 cm-Küvette (2,7 ml Inhalt) mit 2,2 ml Reagens versetzt (Umrühren ist nicht nötig). Dann mißt man 6 min lang jede $^1/_2$ min die Extinktion bei 500 mμ gegen das Reagens, ermittelt durch graphische Extrapolation den Extinktionswert bei $t = 0$ und berechnet $E^{1\%}_{1cm}$. Der Wirkungswert der Probe ($I \cdot E'$g) beträgt: $\frac{E^{1\%}_{1cm}\ \text{Probe} \cdot 40\,000\,000}{E^{1\%}_{1cm}\ I}$ — . — Der Wert von $E^{1\%}_{1cm}\ I$, der durch Untersuchung einer Standardlösung von I in Dichloräthylen ermittelt wird, liegt gewöhnlich bei 1900. — Das Beersche Gesetz gilt für den Meßbereich 0,3 bis 0,6. Gegebenenfalls kann die vorgelegte Menge an I-Lösung auf Kosten des Reagenses erhöht werden, z. B. 0,6 ml Lösung + 2,0 ml Reagens, jedoch nicht über diesen Betrag hinaus. Die Fehlerbreite der Methode beträgt ± 3%.

Über das papierchromatographische Verhalten von Vitamin K_1 und anderen Naphthochinonen berichten J. P. Green und H. Dam[1]. Verff. ermittelten die R_f-Werte dieser Verbindungen mit den Lösungsmittelsystemen: 1. Äthanol-Essigsäure-Wasser (750:25:225), 2. Isopropanol-Essigsäure-Wasser (600:25:375), 3. n-Propanol-Essigsäure-Wasser (600:25:375), sowie ihre Fluorescenzfarben vor und nach der Bestrahlung mit UV-Licht. Das verwendete Filtrierpapier (Whatman Nr. 1) wurde vor der Chromatographie in eine 5 Vol°$_0$ige Lösung von Dow Corning Silicone Nr. 1107 in Cyclohexan oder Chloroform getaucht und an der Luft getrocknet. Während der Chromatographie (16—20 Std aufsteigend bei Zimmertemperatur) ist zur Verhinderung von Photolyse Lichtausschluß erforderlich.

R_f-Werte (weitere Verbindungen im Original)

Nr.	Substanz	Lösungsmittel Nr. 1	2	3
1.	Menadion (2-Methyl-1,4-naphtochinon) . .	0,71	0,82	0,89
2.	Dimeres von Menadion	0,73	0,88	0,97
3.	Phtiocol	0,63	0,72	0,80
4.	Vitamin K_1	0,19	0,28	0,36
5.	2,3-Oxyd von Vitamin K_1	0,19	0,27	0,38
6.	Vitamin K_2	0,14	0,18	0,30

Sämtliche Verbindungen fluorescieren im UV-Licht rot. Nach einer 45—60 sec langen UV-Bestrahlung (Philips UV-Lampe Nr. 57202 E 170; 3665 Å) fluorescieren die Verbindungen Nr. 1 und 2 blau, Nr. 3 rot, Nr. 4, 5 und 6 grün. Besprüht man nun das Chromatogramm mit 2 n äthanolischer Kalilauge, so fluorescieren Nr. 1 und 2 grün, Nr. 4, 5 und 6 orange, während Nr. 3 im sichtbaren Licht kirschrot erscheint. — Wenn die auf der Startlinie aufgebrachten Verbindungen vor dem Entwickeln 2—3 min mit UV-Licht bestrahlt werden, so erscheinen auf dem fertigen Chromatogramm neben den unveränderten Substanzen deren Spaltprodukte. Abgesehen von Phtiocol, das nicht verändert wird, zeigen alle Verbindungen einen auf der Startlinie verbleibenden blau fluorescierenden Fleck, außerdem die Verbindungen Nr. 4, 5 und 6 je zwei Abbauprodukte (R_f-Werte und Fluorescenzfarben im

[1] Acta chem. scand. (Kopenhagen) 8, 1341—1346 (1954). Polytechn. Inst. Kopenhagen (Dänemark).

Original). — Es besteht eine lineare Beziehung zwischen Fleckengröße und dem Logarithmus der Konzentration im Bereich von 1,5 bis 50 μg. Substanzmengen bis herab zu 0,5 μg können noch im UV-Licht erkannt werden. H. Sperlich.

Die polarographische Reduktion des Disulfoxyds des Cystamins wurde von A. Liberti und C. BionDi[1] in Abhängigkeit vom p_H-Wert der als Grundlösung verwendeten Pufferlösungen nach Britton (mit 0,005% Gelatinezusatz) untersucht. Das Polarogramm zeigt in stark saurer Lösung (0,6 m Salzsäure) nur eine Stufe bei $E_{1/2} = -0{,}25$ V. Bei p_H-Werten über 1 tritt eine zweite Stufe bei $E_{1/2} = -0{,}66$ V hinzu, deren Höhe auf Kosten der Höhe der ersten Stufe mit steigendem p_H-Wert zunehmend wächst, während die Höhe beider Stufen zusammen konstant bleibt. Bei p_H 5,1 besitzen beide Stufen die gleiche Höhe. Nur das Halbstufenpotential der zweiten Stufe erweist sich als (wenig) p_H-abhängig. Eine analytische Auswertung ist möglich, da die Höhe beider Stufen der Konzentration proportional ist. Doch muß berücksichtigt werden, daß die Verbindung in Reaktion 1. Ordnung hydrolysiert, besonders stark in alkalischen Lösungen, so daß die Stufenhöhen stark vom Zeitpunkt abhängen, an dem die Aufnahme des Polarogramms seit dem Herstellen der Lösung vorgenommen wird. Diese Abhängigkeit ist darauf zurückzuführen, daß bei Reduktion des Disulfoxyds Cystamin und Cystaminsulfinsäure entstehen, Cystamin selbst aber ebenfalls bei ähnlichen Potentialen reduzierbar ist, wie an weiteren Versuchen gezeigt ist. K. Cruse.

Die Oxydationsmethoden zur Bestimmung der ätherischen Öle in Gewürzen und Drogen wurden von H. Hadorn, R. Jungkunz und K. W. Biefer[2] experimentell überprüft. Das Verfahren von C. Zach[3] in seinen verschiedenen Modifikationen ergab reproduzierbare Werte, erwies sich jedoch als zu umständlich und zeitraubend. Verff. arbeiteten daher eine einfache Diffusionsmethode aus, die auf das von J. Wurziger[4] angegebene Verfahren zur Bestimmung der Oxydations- und Aromazahl in Röstkaffee zurückgeht. Dabei werden in einer geschlossenen Apparatur (ähnlich dem Widmark-Kölbchen) die ätherischen Öle bei 105° C (Trockenschrank) mit dem Wasserdampf aus der Gewürzprobe herausdestilliert, in Dichromat-Schwefelsäure von bekanntem Gehalt absorbiert, oxydiert und schließlich jodometrisch bestimmt. Die Berechnung erfolgt mittels empirischer Oxydationsfaktoren, die von den Verff. für 18 ätherische Öle ermittelt wurden. Die Einzelheiten des ausführlich beschriebenen Verfahrens, das eine Einwaage von nur 20—150 mg Droge erfordert, mögen im Original eingesehen werden. H. Sperlich.

Über die Bestimmung der Farbkomponenten in Gewürzpaprika berichten H. V. Shuster und E. E. Lockhardt[5]. Verff. untersuchten den Einfluß der verschiedensten Faktoren wie Art des Lösungsmittels, Teilchengröße der Probe, Anwendung von Temperatur und Extraktionsdauer auf die Genauigkeit der Bestimmung, die auf der Messung der Farbintensität im Photometer beruht. Als geeignete Extraktionslösung ergab sich Aceton bei einer Extraktionszeit von 24 Std bei 37° C. Vorteilhaft erwies sich zur vollständigen Lösung der Farbstoffe eine Teilchengröße von höchstens 0,5 mm. Zur Messung wird das Beckman DU-Quarz-

[1] Ann. Chimica **44**, 443—453 (1954). Univ. Rom.

[2] Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **45**, 200—221 (1954). Lab. VSK, Basel (Schweiz).

[3] Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **22**, 72 (1931); **23**, 156 (1932); Schweiz. Lebensmittelbuch 4. Aufl. S. 253 (1937); vgl. diese Z. **87**, 228 (1932); **93**, 222 (1933).

[4] Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. **48**, 189 (1952).

[5] Food Res. **19**, 472—482 (1954). Inst. Technol, Cambridge, Mass. (USA).

Spektrophotometer (Wellenlänge 462 mμ), für Serienanalysen ein einfaches Photometer vom Typ Cenco-Sheard-Sanford (Filter Evelyn 470) empfohlen.

Doris Heiligmann.

Zur Bestimmung von Vanillin in Vanille-Extrakten führt A. Maurel[1] das Vanillin mit Hydroxylaminchlorhydrat in das Oxim über und titriert die dabei in Freiheit gesetzte äquimolare Menge an Chlorwasserstoff potentiometrisch. Mit diesem Verfahren lassen sich noch 4 mg in der Probemenge bestimmen. Die Genauigkeit wird für geringe Gehalte (0,06—0,15%) mit ± 10, für höhere Gehalte über 0,25 % mit ± 5% angegeben. Nachteilig wirkt sich aus, daß auch andere aldehydische Substanzen reagieren können, jedoch hat der Verf. zeigen können, daß Glucose innerhalb von 30 min nur in Spuren Oxim bildet. Nach den Erfahrungen des Verf. liefert die colorimetrische Methode nach Folin-Denis mit Phosphowolframmolybdänsäure in der Ausführungsform der AOAC-Methode zu hohe Werte. — *Vorschrift.* 5 ml eines 10%igen oder 0,5 ml eines 50%igen Extrakts werden mit Alkohol auf 15 ml verdünnt. Nach Eingießen in ein 15 ml dest. Wasser enthaltendes 150 ml-Becherglas stellt man den etwa bei 5 liegenden p_H-Wert mit Hilfe eines p_H-Meßgerätes und durch Zugabe von alkoholischer Kalilauge auf etwa 6 ein. Dann gibt man unter Rühren 5 ml einer 0,5%igen alkoholischen Lösung von Hydroxylaminchlorhydrat zu und liest sofort den p_H-Wert genau ab. Nach 30minutigem Einwirken bringt man den inzwischen abgesunkenen p_H-Wert auf diesen Ausgangswert durch Zutropfenlassen von 0,01 n alkoholischer Kalilauge zurück. Bei einem Verbrauch von n ml 0,01 n Lauge und einer Ausgangsmenge von V ml Extrakt berechnet sich der Vanillingehalt in 100 ml Extrakt zu $n \cdot 0{,}152/V$.

A. Maurel und S. Lalement[2] beschreiben außer dem vorstehenden Verfahren eine Methode, die auf einer Nitrosierung des Vanillins mit anschließender spektrophotometrischer Bestimmung des Nitrosoderivates bei 415 mμ beruht. — *Arbeitsvorschrift.* 1—5 ml Vanilleextrakt werden mit destill. Wasser verdünnt (auftretende Trübung wird durch Zugabe von etwas Alkohol beseitigt). Man klärt mit 10%iger neutraler Bleiacetatlösung, filtriert und entfernt den Bleiüberschuß mit 10%iger Schwefelsäure, filtriert nochmals und füllt dann in einem Meßkolben je nach der zu erwartenden Menge auf 20—100 ml auf. Davon entnimmt man 5 ml und fügt 2 ml Natriumacetat-Essigsäurepuffer von p_H 4 und 2 ml einer 10%igen Natriumnitritlösung zu. Zur Nitrosierung stellt man das Reagensglas 15 min in ein siedendes Wasserbad, füllt nach Abkühlen auf 10 ml auf und photometriert. — Cumarin, Nerolin und Heliotrop geben unter den gleichen Bedingungen keine Färbung, dagegen liefert Äthylvanillin ebenfalls ein Nitrosoderivat mit dem gleichen Absorptionsmaximum. Das Nitrosoderivat von Isoeugenol absorbiert jedoch an einer anderen Stelle.

L. Acker.

2. Auf Handel, Industrie und Landwirtschaft bezügliche Methoden.

Literatur. K. Winnacker und E. Weingaertner: *Chemische Technologie.* Bd. 4. *Organische Technologie II.* XXVIII, 1191 Seiten mit 240 Zahlentafeln und 235 Abbildungen. Carl Hanser Verlag, München 1954. Preis kart. 92,50 DM, Leinen 95,50 DM.

[1] Ann. Falsificat. Fraudes **47**, 177—183, 272—281 (1954). Lab. Municipal, Nizza (Frankreich).

[2] Chim. analytique **36**, 241—244 (1954).

Mit dem vorliegenden 4. Band ist das 5bändige Werk der chemischen Technologie vollständig[1]. In knappen 4 Jahren ist damit ein Standardwerk geschaffen worden, welches das weitverzweigte Fachgebiet in sehr klarer Form erschöpfend behandelt. Da die Herausgeber und die Verfasser der einzelnen Kapitel in der industriellen Praxis stehen oder doch mit ihr eng zusammenarbeiten, ist die Gewähr dafür gegeben, daß der Leser ein getreues Bild des heutigen Standes der Technik erhält. In dem 4. Band werden behandelt die aromatischen Zwischenprodukte, die organischen Farbstoffe, Anwendung und Eigenschaften der Teerfarbstoffe, Textilhilfsmittel und Waschrohstoffe, einschließlich Seife, das Bleichen, Explosivstoffe, Terpene und Campher, die Fabrikation der photographischen Filme, Platten und Papiere, die Lederherstellung, die Kunststoffe, Kautschuk, Silicone, die Lackrohstoffe, Nahrungs- und Genußmittel, Stärke und Stärkederivate, die Zuckerfabrikation, chemische Schädlingsbekämpfung und die Arzneimittel.

F. A. Henglein: *Grundriß der chemischen Technik.* 8., völlig neu bearbeitete Auflage. XII, 762 Seiten mit 4 mehrfarbigen Tafeln, 460 Abbildungen und 223 Tabellen. Verlag Chemie, Weinheim Bergstraße 1954. Preis Ganzl. 49,80 DM.

Für die Beliebtheit und den Wert des Werkes von Henglein spricht, daß es in knappen 18 Jahren, wobei die Kriegseinflüsse mit in Rechnung gestellt werden müssen, bereits die 8. Auflage erlebt. Das Werk wendet sich zunächst an die Chemiestudierenden, ist aber zweifellos auch für Maschinenbauer und manche andere Kreise von Interesse. In der 8. Auflage sind die theoretischen Grundlagen der Verfahrenstechnik ausführlicher als bisher behandelt. Mit Recht hat der Verfasser volkswirtschaftliche Themen, wie „Aufbau der chemischen Industrie und ihre volkswirtschaftliche Bedeutung" sowie „Chemische Industrie in der Weltwirtschaft" aus älteren Auflagen wieder aufgenommen. Mehr oder weniger weitgehende Umänderungen haben im allgemeinen Teil die Abschnitte Oberflächenvergrößerung, Agglomerieren, Mischen, Destillieren, Extrahieren, Messen usw., im speziellen Teil die Abschnitte Kunststoffe, Textilien erfahren. In dem speziellen Teil sind auch viele Abschnitte, nämlich Rohstoff Methan, Physik der Hüttentechnik, Amalgammetallurgie, radioaktive Isotope, Atomkernspaltung, Petrolchemie, Geschmackstoffe, Baustoffe neu aufgenommen worden. Wenn man noch hinzufügt, daß zahlreiche Übersichtstabellen neu eingeschaltet, fast alle Zeichnungen durch neue ersetzt, 2000 Literaturzitate aus den letzten Jahren neu berücksichtigt wurden, so darf man erwarten, daß das Werk von Henglein in immer weiteren Interessentenkreisen Eingang finden wird.

Gugger, Heering, H. Müller, Prahl, Schildt, Volkmann und Weber: *Sicherheit im Chemiebetrieb. Ein Handbuch der Betriebsgefahren in der chemischen Industrie und ihre Verhütung.* 507 Seiten mit zahlreichen Abbildungen im Text und 45 Abbildungen auf Tafeln. Econ-Verlag, Düsseldorf 1954. Preis 14,80 DM.

Der im Chemiebetrieb tätige Analytiker ist an der „Unfallsicherheit" ebenso interessiert wie es die übrigen Angehörigen sind. Das vorliegende Buch bildet eine wertvolle Ergänzung der recht umfangreichen Literatur auf diesem Gebiet. Es enthält neben ausführlichen Angaben über Schutz gegen Feuer und Explosionen, Schutz gegen mechanische und elektrische Unfälle und gegen gesundheitsgefährdende Stoffe auch die „Psychologie der Sicherheit im Betrieb". Dieses Kapitel, das den arbeitenden Menschen mit all seinen Stärken und Schwächen in den Mittelpunkt stellt, wird oft an Stellen, wo Gesetzesparagraphen Lücken übriglassen, die Betriebsleitung in der Unfallverhütung unterstützen. Eine begrüßenswerte Bildbeilage mit Schutzvorrichtungen an verschiedenen Betriebseinrichtungen beschließt das gut ausgestattete Buch, das in der Betriebsbibliothek nicht fehlen sollte. H. Kurtenacker.

[1] Besprechungen der früheren Bände vgl. diese Z. **134**, 445 (1951); **135**, 222 (1952); **140**, 447 (1953).

Sydney J. Johnstone: *Minerals for the Chemical and Allied Industries.* 692 Seiten, Verlag Chapman & Hall Ltd., London 1954, Preis 75.— sh.

Der Verfasser bespricht in alphabetischer Reihenfolge Mineralien und ihre daraus gewonnenen Produkte, um damit einen leichten, aber zuverlässigen Überblick über die Verwendungen dieser einzelnen Stoffe zu geben. Unter der Überschrift „Aluminium" wird z. B. zunächst der Bauxit behandelt, wobei gleichzeitig Zahlen über die Weltproduktion gegeben werden. Es wird dann auf die verschiedenen Verwendungszwecke des Bauxits eingegangen und ein kurzer Überblick über die Verfahren der Aluminiumgewinnung gegeben. Anschließend wird die Herstellung von Aluminiumsalzen besprochen. Das Buch wird von vielen gerne benutzt werden, da es neben sorgfältig ausgewählten Literaturangaben vor allem auch auf solche Veröffentlichungen aufmerksam macht, in denen Beurteilungs- und Bewertungsgrundlagen der einzelnen Produkte mitgeteilt werden.

Friedr. Peisl: *50 Jahre Grundwasserbeobachtungen am Brunnen in Eglfing.* Besondere Mitteilungen zum Deutschen Gewässerkundlichen Jahrbuch Nr. 9. Herausgegeben von der Bayer. Landesstelle für Gewässerkunde in München, 1953. Preis gebunden 3,— DM.

Nach Angabe des Vorwortes nimmt unter den Brunnen, die von der Bayer. Landesstelle für Gewässerkunde in ihrem Bereich regelmäßig beobachtet werden, der Eglfinger Brunnen auf Grund seiner Lage und seiner langjährigen Beobachtungszeit eine besondere Stellung ein. Durch genaue Beschreibung seiner Lage, seiner geologischen Verhältnisse und ähnlicher Angaben soll die Verwertung der festgestellten Beobachtungen vertieft und erweitert werden. Durch zahlreiche Schaubilder werden die Ergebnisse überaus übersichtlich dargestellt. Jeder, der sich für diese Fragen interessiert, wird daher in der Veröffentlichung ein für viele Zwecke verwertbares Material zusammengestellt finden.

W. Gelbke, P. Geselle, H. Matzke: *Ein versenkbares Meßgerät für hydrographische, speziell optische Seewasseruntersuchungen.* Veröffentlichungen des Meteorologischen und Hydrologischen Dienstes der Deutschen Demokratischen Republik Nr. 11, Akademie-Verlag Berlin 1953. 70 Seiten mit 36 Abbildungen. Preis brosch. 16,— DM.

Das Büchlein gibt die Entwicklung des in dem Titel des Buches genannten Meßgerätes wieder und beschreibt ferner damit durchgeführte Laboratoriumsversuche und Eichungen. Abschließend erfolgt noch eine Beschreibung von Zusatzgeräten. Ferner wird der praktische Einsatz geschildert und zum Schluß ein ausführliches Literaturverzeichnis mitgeteilt. — Das Buch wird ohne Frage für alle von Interesse sein, die sich mit Seewasseruntersuchungen beschäftigen. A. Gehring.

Atmosphärische Luft. *Die Messung von sehr kleinen Mengen von Kohlenoxyd in Luft, Blut und Lunge* gestattet eine von V. Tomberg[1] entwickelte spektrophotometrische Methode, mit der noch 1 Teil CO in 100000000 Teilen Luft gemessen und mit einer geeigneten Apparatur fortlaufend registriert werden kann. Der durch die Einwirkung von CO auf Quecksilberoxyd frei gewordene Hg-Dampf wirkt absorbierend auf die Hg-Resonanzlinie einer Hg-Lichtquelle. Die zu untersuchende Luft wird über das auf konstante Temperatur ($< 200°$ C) gehaltene HgO gesaugt und zum Vergleich wird über eine zweite HgO-Füllung reine Luft oder Luft mit bekanntem CO-Gehalt geleitet. In zwei Meßzellen wird der Hg-Dampf mit der Wellenlänge 2537 Å einer Quecksilberlampe bestrahlt, deren Licht dann auf 2 Photozellen fällt. Der entstehende Photozellenstrom ist proportional der Differenz des Kohlenoxydgehalts der beiden Gase. — Zur *Bestimmung von CO in Blut* gibt

[1] Experientia (Basel) **10**, 388—389 (1954). Inst. Biophys. Res., New York.

man zu 2 ml der Probe 5 Tropfen 10%ige Schwefelsäure und sammelt das ausgetriebene Kohlenoxyd in graduierten Gasflaschen, die man an die Meßapparatur anschließt. — Um den *CO-Gehalt der Atemluft* zu erfassen, läßt man die Versuchsperson 5 Liter-Gummiballone füllen und analysiert dann diese Gasmengen.

D. V. Sinkinson[1] beschreibt ein Gerät für die *Bestimmung von nitrosen Gasen in der Luft durch Messung der Lichtabsorption*. Das Licht einer 12 V-Lampe geht nach beiden Seiten zunächst durch ein Filter, dann durch eine Linse mit 5 cm Brennweite und wird anschließend durch Planspiegel durch je einen Tubus (85 cm Länge, 6 cm ⌀) geschickt. An den Enden dieser Tubusse sind lichtelektrische Zellen, die mit einem Galvanometer (100 Ω) verbunden sind. Zur Einstellung des Nullpunktes wird durch beide Tubusse reine Luft geleitet und die Lichtstärke so eingestellt, daß das Galvanometer keinen Ausschlag zeigt. Läßt man nun durch den einen Tubus Luft, die nitrose Gase enthält, strömen, so ändert sich die Absorption und das Galvanometer zeigt einen Ausschlag, der proportional dem Gehalt an NO_2 ist. Die Temperatur der Gase wird dadurch konstant gehalten, daß sie vorher durch ein Gefäß fließen, welches in einem Wasserbad steht. Rauch, Staub usw. werden durch Filter aus Glaswolle zurückgehalten, andere gefärbte Gase stören natürlich. Mit der Anordnung können noch 5 μg NO_2/Liter, entsprechend einem Galvanometerausschlag von etwa 2 mm, erfaßt werden. G. Denk.

Zum Nachweis von freien Halogenen oder Schwefelwasserstoff in der Luft wendet P. M. Sadovskij[2] Elektrolytkupfer in Form feiner Feilspäne an. Die Späne werden durch Absieben von Staub befreit und nach Reinigung mit Diäthyläther in ein 2 bis 3 mm weites Röhrchen zwischen Asbestpfropfen eingebracht. Dieses einfache Gerät dient bei der sanitären Betriebskontrolle als Absorber. Beim Durchsaugen von *Jod oder Schwefelwasserstoff enthaltender Luft* überzieht sich das metallische Kupfer mit einer dunkelgefärbten Schicht. Der Absorber kann auch zum Nachweis von Kohlenoxyd eingesetzt werden, wenn man die Luft vorher über erhitztes Jodsäureanhydrid leitet; die dabei freigesetzten Joddämpfe werden im Absorber festgehalten. Die feinen Kupferspäne sind auch zur *Bindung von freiem Halogen in wäßrigen Lösungen*, z. B. von Jod in Kaliumjodidlösungen, geeignet.

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung von Alkylchlorsilandämpfen in der Luft haben E. A. Peregud und N. P. Kozlova[3] ausgearbeitet. Zur Absorption und zur Zerstörung der organischen Substanz dient konzentrierte Schwefelsäure. Nach Abrauchen der Schwefelsäure und Alkalischmelze des Rückstandes liegt das Silicium als Silicat vor und kann als Molybdänblau colorimetriert werden. Als selektives Reduktionsmittel, welches nur den Si-Mo-Komplex in Mo-Blau überführt, aber weder mit dem im Überschuß vorhandenen Molybdat noch mit den Mo-Komplexen von Phosphor- und Arsensäure reagiert, wird Ascorbinsäure in Gegenwart von Weinsäure empfohlen. — *Arbeitsweise*. 5—10 l der zu untersuchenden Luft werden mit konstanter Geschwindigkeit von höchstens 5 l/Std durch 2 hintereinandergeschaltete Mikroabsorber nach Poležajev angesaugt, die mit je 5 ml konzentrierter Schwefelsäure beschickt sind. Auf diese Weise erhält man den Durchschnittsgehalt der Luft an Alkylchlorsilanen in der Zeit der Probenahme. Wenn eine nur kurzfristig auftretende höhere Konzentration an Alkylchlorsilan bestimmt werden soll, verwendet man zur Absorption evakuierte Gaspipetten von 1 l Inhalt, die mit 10 ml konzentrierter Schwefelsäure beschickt sind. Die Säure aus jedem

[1] Chem. and Ind. **1954**, 1003—1004. Chem. Defence Exper. Establ., Porton, Salisbury, Wilts. (England).

[2] Ž. anal. Chim. **9**, 58—59 (1954) [Russisch].

[3] Ž. anal. Chim. **9**, 47—50 (1954) [Russisch]. Lehr- und Forschungsinst. Arbeitshygiene und Berufskrankheiten, Leningrad.

einzelnen Absorber, bzw. 5 ml der Säure aus der Gaspipette, raucht man in einem Platintiegel auf dem Sandbad vorsichtig ab, glüht kurz im Tiegelofen und erhitzt dann mit 0,1 g Natriumkaliumcarbonat bis zum klaren Durchschmelzen. Die Schmelze laugt man mit heißem Wasser (3 mal 5 ml) aus, bringt die Lösung in einen Kolben aus Molybdänglas und setzt n Schwefelsäure bis zur schwach sauren Reaktion (höchstens 0,02 n) zu, treibt die Kohlensäure aus und füllt nach dem Abkühlen im Meßzylinder mit destilliertem Wasser auf 20 ml auf. Für die colorimetrische Bestimmung versetzt man 4 ml dieser Lösung mit 0,1 ml Molybdatlösung (18,8 g Ammoniummolybdat in etwa 150 ml Wasser gelöst, mit 80 ml 10 n Schwefelsäure versetzt und mit Wasser auf 250 ml aufgefüllt), läßt 5 min (zur Bildung des gelben Si-Mo-Komplexes) stehen und gibt dann unter Umschütteln 1 ml 5%ige Weinsäurelösung und 0,1 ml 1%ige Ascorbinsäurelösung zu. Nach 30 min mißt man den entstandenen blauen Farbton. Die Eichkurve, die in gleicher Weise unter Anwendung einer Natriumsilicatlösung von bekanntem Gehalt für Si-Mengen von 1—100 μg aufgestellt wurde, verläuft für 1—20 μg Si fast geradlinig. Es empfiehlt sich, bei jeder Versuchsreihe eine Blindbestimmung (ohne Si) zur Kontrolle der Reagentien auszuführen. W. Antoni.

Der Nachweis und die Bestimmung polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe in der Luft wird nach R. L. Cooper[1] durch die Kombination einer Chromatographie auf Aluminiumoxyd und einer absorptionsspektrophotometrischen Methode ermöglicht. Die Reproduzierbarkeit dieser Methode beträgt im Durchschnitt $\pm$ 0,5 μg, und variiert etwas mit den zu bestimmenden Substanzen. Die Untersuchungen, die mit Hilfe dieser Methode durchgeführt wurden, erstrecken sich auf die Zusammensetzung der die Luft verunreinigenden rußigen Materialien und hier besonders auf den Gehalt an 3,4-Benzpyren, das ausgeprägte cancerogene Eigenschaften aufweist. Da bei vorausgegangenen Untersuchungen von Haushaltsruß festgestellt wurde, daß außer 3,4-Benzpyren in der gleichen chromatographischen Zone noch Verbindungen wie z. B. Perylen, 1,2-Benzpyren, Anthanthren und 1,12-Benzperylen vorkommen, Verbindungen also, wie sie in den rußigen Verunreinigungen der Stadtluft festgestellt wurden, wurde auch der Einfluß dieser Verbindungen auf die Bestimmung von 3,4-Benzpyren untersucht. Die Untersuchung der nach dem Chromatographieren erhaltenen Eluate geschieht nach der Methode von Ph. Wedgwood und R. L. Cooper[2], während vom Verf. genauere Angaben über die Extraktion der aus der Luft gewonnenen Proben gemacht werden. Wegen weiterer Einzelheiten wie z. B. Kombination der einzelnen Eluate zur Bestimmung der individuellen Verbindungen, Absorptionsmaxima der verschiedenen Verbindungen, Auswertung der im einzelnen gewonnenen Absorptionskurven usw. muß auf das Original verwiesen werden. H. Schmidt, Wiesbaden.

Die quantitative Bestimmung von Quarzteilchen im Staub von Gießereien mittels eines Röntgendiffraktometers beschreiben G. L. Clark, W. F. Loranger und S. J. Bodnar[3]. Die Staubproben werden gewogen, mit einer bekannten Menge CaF_2 versetzt und in eine Lucite-Küvette von 1 · 2 · 0,2 an (oder in eine Al-Küvette) so eingefüllt, daß die Teilchenorientierung innerhalb des Pulvers möglichst klein bleibt. Gemessen werden die 3,35 Å-Linie von α-Quarz (Intensität Ia) und die 3,16 Å-Linie von CaF_2 (Intensität Ic), aus deren Intensitätsverhältnissen an Hand einer Eichkurve der Prozentgehalt von kristallinem α-Quarz ermittelt werden kann. Für die Aufstellung der Eichkurven dienten Standardproben aus 99,9%igem α-Quarz, gemischt mit CaF_2 und amorpher Kieselsäure. Die Eichkurven, die beim Auftragen

[1] Analyst (London) **79**, 573—579 (1954). Bartholomew's Hosp., London, E. C. 1.

[2] Analyst (London) **78**, 170 (1953); **79**, 163 (1954); vgl. diese Z. **141**, 293 (1953); **144**, 210 (1955).

[3] Analyt. Chemistry **26**, 1413—1416 (1954). Univ. Urbana, Ill. (USA).

von Ia Ic gegen % Quarz erhalten wurden, sind im gesamten Quarzkonzentrationsbereich linear. F. Weigel.

G. L. Clark und H. C. Terford[1] wenden die *X-Strahlen-Fluorescenzanalyse auf Gießereistäube für die Diagnose der Siderose* als Gegenstück zur Silicose an. Verwendet wurde das SPG Fluorescenzspektrometer der General-Electric mit Geigerzähler, welches mit Machlett AEG-50 Wolframröhre bei 50 KV und 50 mA arbeitet. Die Fluorescenzstrahlung wurde analysiert durch Streuung durch einen Glimmerkristall von 0,033 mm Dicke und definiert durch einen 0,3° Detektorspalt vor dem Geigerzähler. Der Probenhalter war aus Aluminium mit einer Vertiefung von 25,4 mm Durchmesser und 3,2 mm Tiefe. Es wurde eine Eichkurve durch Auftragen des Intensitätsverhältnisses der K_α-Linien von Eisen : Nickel als Funktion der bekannten Zusammensetzung von homogenen Mustern aufgestellt und eine Reproduzierbarkeit von 0,22% der Bestimmung von Eisen gefunden. Die untersuchten Stäube enthielten mit wenigen Ausnahmen entweder hohe Eisen- und niedrige Quarzgehalte, oder umgekehrt. Die Eisengehalte lagen zwischen 1,87 und 30,21%. Chemische Analysen gaben erhebliche Unterwerte gegenüber den Fluorescenzspektralanalysen. J. Eisenbrand.

Wasser, Abwasser. *Die Bestimmung radioaktiver Verunreinigungen in Wasser* mit Hilfe eines Proportionalgasstromzählers beschreiben L. R. Setter, A. S. Goldin und J. S. Nader[2]. Der verwendete Zähler (Abb. 1) gestattet die Erfassung von α-Aktivitäten in der Größenordnung 1—10 $\mu\mu$C l und β-Aktivitäten von 10 bis 100 $\mu\mu$C l Wasser. — *Vorbereitung der Zählpräparate.* Die in einer Probe von 200 bis 1000 ml enthaltenen, suspendierten Teilchen werden mittels Filtration durch Acetylcellulosemembranen oder dichte Papierfilter abgetrennt, die Filter bei 103° C getrocknet, abgekühlt und die α- sowie β-Aktivität gezählt. Zur Ermittlung der Selbstabsorptionskorrektur wird die Menge der suspendierten Teilchen wie in der Wasseranalyse üblich, bestimmt[3]. Eine Probe des Filtrates (mit möglichst < 100 mg Festsubstanzgehalt) wird direkt auf einer tarierten Metallschale eingedampft, wobei sich die Verwendung eines selbstregulierenden Verdampfers bewährt (Eindampfgeschwindigkeit 20 ml/Std bei < 90° C).

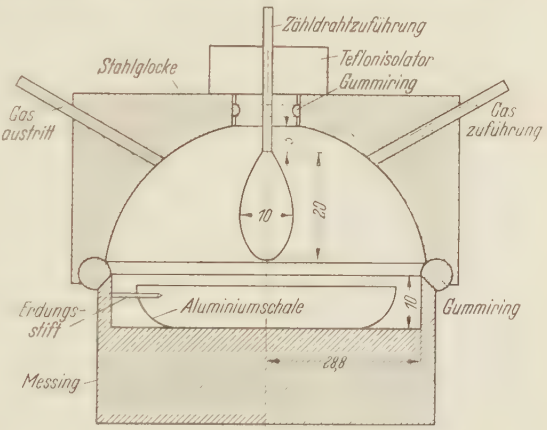


Abb. 1. Zählkammer.

Nach völligem Eindampfen wird auf 103° C erhitzt, abgekühlt, gewogen und gezählt. Bei genügend hoher Aktivität wird eine Probe von mindestens 1000 Impulsen/min direkt in die Zählschale pipettiert und in dieser eingedampft. — *Zählung* (Abb. 1).

[1] Analyt. Chemistry **26**, 1416—1418 (1954). Univ. Urbana, Illinois (USA).

[2] Analyt. Chemistry **26**, 1304—1306 (1954). Taft Sanit. Engin. Center, Cincinnati, Ohio (USA).

[3] Amer. Public. Health Assoc., N. Y., Standard Methods for the Examination of Water, Sewage and industrial Wastes, 9th. Ed. S. 21 (1946).

Nach Aufstellung der Ionisationskurven (Impulszahl als Funktion des Zählrohrpotentials) für α- und β-Strahlung mit Hilfe einer unbedeckten Uranoxydquelle von 5 cm $\varnothing$ als α-Standard und einer gleichen, mit 10 mg Al cm^2 als Absorber bedeckten Quelle als β-Standard wird in der Mitte des α- bzw. β-Plateaus gezählt. Täglich wird 3mal mit den Standards verglichen und der Untergrund an leeren Präparatenschalen gemessen. Die Proben werden je 16 min in der Mitte des α- und β-Plateaus gemessen. Wenn die α-Aktivität < 5 Impulse min beträgt, wird die β-Aktivität durch Subtraktion der α-Impulse bestimmt, bei α-Aktivitäten > 5 Impulse/min durch Zählung nach Zwischenschaltung von 7 mg cm^2 Al-Absorber und Korrektur der Absorption auf Schichtdicke Null. Die erhaltenen Werte werden unter Berücksichtigung der üblichen Korrekturen (Geometriefaktor, Selbstabsorption, Rückstreuung) in $\mu\mu$C/l umgerechnet. Die Bestimmung der letzten beiden Korrekturen mit aktiven Standardpräparaten (^{35}S, ^{204}Tl und ^{32}P, Spaltproduktgemisch) wird beschrieben, die erhaltenen Zahlenwerte für die Korrekturen werden angegeben. Der Wirkungsgrad des Zählers wird zu 50—52% für α- und 50—75% für β-Aktivität angegeben; bei einer Aktivität von 50 $\mu\mu$C/l beträgt der statistische Zählfehler $\pm$ 10% für α- und $\pm$ 20% für β-Aktivität.

Methoden zur Bestimmung der kurzlebigen Rn-Zerfallsprodukte in natürlichen Wasserproben beschreiben P. K. Kuroda und Y. Yokoyama[1]. — *Arbeitsvorschrift.* Je nachdem, ob der Rn-Gehalt des Wassers $< 10^{-9}$ Curie, $10^{-8}\cdots 10^{-7}$ Curie oder $> 10^{-6}$ Curie/l beträgt, werden verschiedene Arbeitsweisen verwendet. Von Wässern mit $> 10^{-6}$ Curie/l nimmt man schnell eine 2 ml-Probe mit einer Injektionsspritze auf und notiert die Zeit der Probenahme. Nach Zeitintervallen von wenigen Minuten bis 3 Std wird ein 0,25 ml-Anteil zur Trockne gedampft und die α-Aktivität des etwa 0,1 mg/cm^2 wiegenden Rückstandes mit einem Lauritsen-Elektroskop bestimmt. — Bei Wässern mit 10^{-8} bis 10^{-7} Curie l erfolgt die Probenahme in einer Reihe von 5- oder 10 ml-Injektionsspritzen. Eingedampft wird eine Probe von 5 oder 10 ml. Sonst verfährt man wie vorstehend angegeben. — Von Wässern mit $< 10^{-9}$ Curie/l entnimmt man Proben in mehrere 500 ml-Flaschen ohne Hinterlassung eines Luftraumes. Nach den gleichen Zeitintervallen wie oben wird die entnommene Probe mit 10 ml konzentrierter Salzsäure angesäuert und mit 100 mg $Pb(NO_3)_2$ als Träger versetzt. Man fällt hierauf PbS mittels 5%iger Na_2S-Lösung, filtriert auf Schnellfilter, trocknet schnell und mißt die α-Aktivität der getrockneten Präparate 20 oder 30 min nach der Filtration. — Als Zählgeräte dienten ein Lauritsen-Elektroskop für die Rn-Zerfallsprodukte, ein fensterloser GM-Zähler mit schleifenförmigem Zähldraht und ein Fensterzähler mit 2,9 mg cm^2 Fenster zur Messung der Regenwasser-Aktivität. Die Direktbestimmung der Rn-Aktivität erfolgte im Fontactoskop[2]. Die Eichung der Zählgeräte erfolgte mittels einer Ra-Standardlösung mit $1{,}00 \cdot 10^{-9}$ g Ra/ml, die 1 Monat in einer luftdicht verschlossenen Flasche gelagert war. — Für die Konzentration von RaA, RaB und RaC gilt:

$$[\mathrm{RaA}] = 1 - \exp(-\lambda_A T)$$

$$[\mathrm{RaB}] = 1 - \frac{\lambda_B}{\lambda_B - \lambda_A} \cdot \exp(-\lambda_A T) - \frac{\lambda_A}{\lambda_A - \lambda_B} \exp(-\lambda_B T)$$

$$[\mathrm{RaC}] = 1 - \frac{\lambda_B \lambda_C}{(\lambda_C - \lambda_A)(\lambda_B - {}_A\lambda)} \exp(-\lambda_A T) -$$

$$- \frac{\lambda_A \lambda_C}{(\lambda_C - \lambda_B)(\lambda_A - \lambda_B)} \exp(-\lambda_B T) - \frac{\lambda_A \lambda_B}{(\lambda_A - \lambda_C)(\lambda_B - \lambda_C)} \exp(-\lambda_C T).$$

[1] Analyt. Chemistry **26**, 1509—1511 (1954). Univ. Fayetteville, Ark. (USA) und Univ. Tokyo (Japan).

[2] Kuroda, P. K., and Y. Yokoyama: Analyst. Chemistry **25**, 832 (1953); vgl. diese Z. **142**, 220 (1954).

Dabei sind λ_A, λ_B und λ_C die Zerfallskontanten von RaA, RaB und RaC. T ist die Zeit zwischen der Absonderung des Wassers im Boden (Trennung des Radons und seiner Zerfallsprodukte vom Muttergestein) und dem Eindampfen der Probe. Die Ergebnisse, die mit den verschiedenen Methoden an einer Reihe von Quellen und Regenwässern gesammelt wurden, werden diskutiert. F. Weigel.

Kleine Mengen von Natrium, besonders in destilliertem Wasser und in Schwefelsäure, werden von P. Mazzamaro und G. Tatoian[1] mit dem *Flammenphotometer* nach der Methode von J. W. Berry, D. G. Chappel und R. B. Barnes[2] bestimmt. Das Verfahren wird jedoch für Mengen bis herab zu $6 \cdot 10^{-7}$ g-Äquivalent/l verfeinert. — Die Lösung, in der Natrium bestimmt werden soll, wird vernebelt, das Aerosol dann in eine Propangasflamme geführt und das Natriumspektrum durch 2 Linsen auf eine photoelektrische Zelle projiziert. Der entstehende Strom wird durch ein hochempfindliches Galvanometer mit dem Widerstand 1900 Ω und der Empfindlichkeit 0,000655 μA/mm gemessen. G. Denk.

Zur Bestimmung von Magnesium neben Calcium, z. B. *in Mineralwässern* eignet sich nach M. Kobrová[3] die Titration mit *8-Oxychinolinlösung* unter Verwendung von *Eriochromschwarz T* als Indicator. Ca stört auch in etwa 10fachem Überschuß nicht. Auch andere Ionen sind in den Mengen, in denen sie in Mineralwässern vorkommen, ohne Einfluß auf die Mg-Bestimmung. *Ausführung. Mineralwässer mit geringem Magnesiumgehalt.* Man versetzt 100 g der Wasserprobe mit 20 ml 2 n Ammoniumchloridlösung und 10 ml Pufferlösung (54 g NH_4Cl + 250 ml 35%iges Ammoniak im Liter). Dann gibt man Eriochromschwarz T als festes 1:100-Gemisch mit Natriumchlorid bis zur deutlichen Weinfarbe zu und titriert heiß mit 0,1 n Oxinlösung. Nach dem Umschlag von Weinrot auf Blau kocht man die titrierte Lösung nochmals auf, versetzt mit weiteren 5 ml Pufferlösung und titriert zum endgültigen Umschlag nach Blau. Die Oxinlösung stellt man her durch Auflösen von 14,5154 g Oxin in der geringstmöglichen Menge Eisessig. Man verdünnt mit Wasser, tropft verdünntes Ammoniak bis zur beginnenden Trübung zu, die man durch Zugabe einiger Tropfen verdünnter Essigsäure beseitigt, und ergänzt mit Wasser auf 1000 ml. Den Faktor ermittelt man mit einer Lösung von bekanntem Magnesiumgehalt. Von *Mineralwässern mit hohem Magnesiumgehalt* verdünnt man 10 g auf 400 ml, versetzt mit 40 ml 2 n Ammoniumchloridlösung und 15 ml Pufferlösung und titriert wie angegeben. Während der Titration fügt man noch etwas Indicator zu, weil der Magnesiumoxinatniederschlag einen Teil des Indicators mit sich reißt. H. Freytag.

A. de Sousa[4] bestimmt *Calcium und Magnesium im Meerwasser* durch Titration mit Komplexon III, wobei die anderen im Wasser vorhandenen Ionen nicht stören. Als Indicator dient für Ca Murexid, für Ca + Mg Eriochromschwarz T. Die Analyse nimmt nur etwa 1 Std Zeit in Anspruch. — *Ausführung.* Zu je 100 ml Meerwasser gibt man tropfenweise Natronlauge, bis etwa p_H 12 erreicht ist, und soviel 0,1%ige Murexidlösung, bis die Flüssigkeit stark rot gefärbt ist. Man titriert mit einer 0,1 m Lösung von Komplexon III bis der Indicator nach Blauviolett umschlägt. Zur *Bestimmung von Mg + Ca* werden 100 ml Wasser mit 1 ml einer 0,4%igen alkoholischen Lösung von Eriochromschwarz T und 10 ml einer Pufferlösung (54 g NH_4Cl + 350 ml 25%iges Ammoniak zum Liter gelöst) versetzt, auf 40–50 C

[1] Analyt. Chemistry **26**, 1512—1513 (1954). United Chromium, Inc., und Patent Button Co., Waterbury, Conn. (USA).

[2] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 19 (1946).

[3] Chem. Listy **48**, 1167—1170 (1954) [Tschechisch]. Bäder-Forsch.-Inst., Prag.

[4] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 221—224 (1954). Faculté Sci., Lissabon (Portugal).

erhitzt und sofort mit 0,1 m Komplexonlösung bis zum Umschlag von Weinrot nach Blau titriert. G. Denk.

Bei der komplexometrischen Calcium- und Magnesiumbestimmung in Mineralwässern ist auf anwesende Störelemente mehr Rücksicht zu nehmen als bei der Analyse von Trinkwasser. M. Kobrová[1] fand, daß man Calcium mit Murexid als Indicator auch neben großen Mengen Magnesium genau bestimmen kann, ohne daß es notwendig ist, den $Mg(OH)_2$-Niederschlag abzufiltrieren. Die Summenbestimmung von Ca und Mg mit Eriochromschwarz T als Indicator kann nur dann genau durchgeführt werden, wenn die Mg-Konzentration nicht zu hoch ist. Zur Untersuchung der Bitterwässer ist das Verfahren also nicht geeignet. Eisen beeinträchtigt die Calciumbestimmung mit dem Murexidindicator, da der $Fe(OH)_3$-Niederschlag den Farbumschlag am Titrationsende nicht erkennen läßt. Man kann aber Eisen mit Tartrat maskieren. Bei der Titration mit Eriochromschwarz T genügt es, die Probe mit Wasser zu verdünnen, um die Eisenstörung auszuschalten. Höhere CO_2-Gehalte im Wasser stören. Man entfernt CO_2 am einfachsten durch Kochen. Andere Elemente kommen in Mineralwässern nur in so kleinen Mengen vor, daß Störungen nicht zu befürchten sind. — *Calciumbestimmung.* Man versetzt 50—100 g Mineralwasser mit 1—2 g $Na_2C_4H_4O_6 \cdot 2\,H_2O$ und einer bekannten überschüssigen Menge Komplexonlösung. Nach Auskochen der Kohlensäure fügt man 250—300 ml Wasser, Murexid bis zur Rotfärbung und etwa 2 g NaOH zu und titriert den Komplexonüberschuß mit Calciumlösung zurück. Der Farbumschlag von Violett nach Rot am Titrationsende ist scharf. Es ist notwendig, Komplexon vor dem Kochen zuzufügen, weil andernfalls schwer lösliche Calciumsalze ausfallen. — *Magnesiumbestimmung.* Man verdünnt 50—100 g Mineralwasser mit 300 ml destilliertem Wasser, erwärmt auf 60° C, gibt für je 100 ml Lösung 5 ml Pufferlösung, ferner Eriochromschwarz T bis zur hell weinroten Farbe und einen Komplexonüberschuß zu. Nach kurzem Erhitzen auf 90—100° C titriert man mit Calciumlösung, gegebenenfalls unter neuem Indicatorzusatz zurück. A. Kurtenacker.

Zur spektroskopischen Bestimmung von Strontium und Lithium in natürlichen Wässern benutzen T. F. Borovik-Romanova, V. V. Korolev und Ju. I. Kucenko[2] ein Gerät mit Wechselstrombogen. Die Analysenlösung wird dem Bogen durch eine 8 mm weite Bohrung der unteren Elektrode zugeführt. Als Vergleichselement werden den Proben Standardlösungen von Cäsiumsalzen zugesetzt. Gemessen werden die Sr-Linie 4607,331 Å, die Li-Linie 6707,844 Å und die Cs-Linien 4593,103 Å und 6723, 279 Å. Das Verfahren eignet sich zur Bestimmung von Strontiummengen von $2{,}2 \cdot 10^{-4}$ bis $6 \cdot 10^{-3}$% und für Lithiummengen von $1{,}0 \cdot 10^{-5}$ bis $5{,}0 \cdot 10^{-4}$ % mit einem mittleren relativen Fehler von ± 6 bis 8%. W. Antoni.

Die mikroanalytische Barium-Strontiumtrennung bei der Mineralwasseranalyse beschreiben H. Ballczo und W. Schenk[3]. Dabei wird zunächst eine Anreicherung von Barium und Strontium und eine Abtrennung anderer Bestandteile (Kieselsäure, Borsäure, Eisen, Aluminium) vorgenommen, wozu im wesentlichen die Vorschrift von H. Ballczo und H. Muthenthaller[4] dient. Den Rückstand, den man gemäß dieser Vorschrift nach der Hydroxydfällung und nach Abrauchen der Ammoniumsalze erhält, löst man in 50 ml dest. Wasser und bringt ihn auf eine Säule mit vorbehandeltem Aluminiumoxyd[5] (25 g 20 min mit 50 ml 0,1 n Salpetersäure kochen,

[1] Chem. Listy **48**, 1255—1257 (1954) [Tschechisch]. Bäderforsch.-Inst., Prag.
[2] Ž. anal. Chim. **9**, 265—269 (1954) [Russisch]. Akad. Wiss. UdSSR, Moskau.
[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 163—185. Univ. Wien.
[4] Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **39**, 152 (1952); vgl. diese Z. **139**, 451 (1953).
[5] „Alumina Adsorption", Fisher Scientific Co.

5mal mit redest. Wasser waschen, trocknen, in die Säule füllen und mit 400 ml Wasser waschen). Eine Tropfgeschwindigkeit von 3 ml/min ist jeweils einzuhalten. Nach dem Durchlaufen der Probe wird noch mit 20 ml Wasser nachgewaschen. Filtrat und Waschwasser enthalten das Strontium, während Barium auf der Säule zurückgehalten wird. Zur Strontiumbestimmung dient wieder die bereits erwähnte Vorschrift [1]. Das Barium wird amperometrisch durch Kombinationstitration[2] bestimmt. Dazu löst man es mit 6 ml 2 n Salpetersäure von der Säule, wäscht mit 30 ml 0,1 n Salpetersäure nach, versetzt die vereinigten Eluate mit der für Kombinationstitrationen notwendigen Menge von 150 μg Barium und dampft zur Trockne. Die gleiche Menge Barium (150 μg) wird als Leerprobe daneben mitgeführt. Den Rückstand löst man in je 1 ml Wasser, fällt das Barium durch Zutropfen von 5 ml einer $4 \cdot 10^{-4}$ m Kaliumchromatlösung, läßt mindestens 18 Std stehen, filtriert, wäscht 2mal mit je 0,5 ml Wasser, versetzt die vereinigten Lösungen mit je 6 Tropfen 60%iger Perchlorsäure und titriert hierauf sofort mit 0,001 n Eisen(II)-ammoniumsulfatlösung amperometrisch zurück. Man gibt jeweils Anteile zu 0,2 ml zu und liest nach 40 sec den Galvanometerausschlag ab. Aus der Differenz der graphisch bestimmten Verbrauchswerte ergibt sich der Gehalt an Barium. — Die Eisen(II)-lösung wurde aus einer mit krist. Elektrolytsilber versehenen Reduktorbürette nach H. Flaschka[3] unter guter Rührung und Stickstoffspülung zugesetzt. Die gegen eine gesätt. Kalomelelektrode geschaltete Platinelektrode war als Rührelektrode mit Quecksilberkontakt ausgestattet. 25 μg Barium konnten noch neben 250 μg Strontium auf $\pm$ 1% genau bestimmt werden. K. Cruse.

K.-E. Quentin[4] verwendet zum *Nachweis von Barium und Strontium in der Wasseranalyse* die Abtrennung von störenden Substanzen und Anreicherung der Erdalkali-Ionen mit Hilfe von Ionenaustauschern, die in der sogenannten „Kippsäule" nach R. Wickbold[5] angewendet werden. Nach Elutierung mit 10%iger Salzsäure dampft man ein oder fällt als Carbonate, trennt papierchromatographisch und macht mit Rhodizonsäure sichtbar. Als Lösungsmittel für die papierchromatographische Trennung von Barium und Strontium verwendet man ein Gemisch von 50 ml n-Propylalkohol, 50 ml Isobutylalkohol, 20 ml 30%iger Essigsäure und 750 mg Kaliumrhodanid. Man läßt die Lösungsmittelfront 24 Std etwa 28 cm hoch aufsteigen. *Bei Anwesenheit größerer Calciummengen* nimmt man eine Mischung aus 95 ml Methanol, 5 ml Salzsäure (D 1,19) und 500 mg Ammoniumrhodanid als Lösungsmittel. Bei einer Entwicklungszeit von 4 Std betragen die R_f-Werte für Barium 0,25—0,26, Strontium 0,51—0,52 und Calcium 0,76—0,77. Durch Schätzung der Fleckengröße und der Farbintensität nach Besprühen mit wäßriger Rhodizonsäurelösung im Vergleich mit bekannten Mengen an Barium und Strontium ließen sich diese auf etwa 20% genau bestimmen. K. Brodersen.

Die polarographische Bestimmung von Sauerstoff in sulfithaltigen Abwässern nach dem Verfahren von A. W. Busch und C. N. Sawyer[6] sowie M. C. Rand und H. Heukelekian[7] haben H. S. Levine und O. J. Williams[8] auf die erzielbare Genauigkeit und auf den genauen Anwendungsbereich geprüft. Die Abhängigkeit der

[1] Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **39**, 152 (1952); vgl. diese Z. **139**, 451 (1953).

[2] Ballczo, H.: diese Z. **134**, 321 (1951/52).

[3] Anal. chim. Acta **4**, 242 (1950); vgl. diese Z. **132**, 289 (1951).

[4] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **99**, 85—90 (1954). Univ. München.

[5] Diese Z. **132**, 324 (1951).

[6] Analyt. Chemistry **24**, 1887 (1952); vgl. diese Z. **141**, 123 (1954).

[7] Sewage ind. Wastes **23**, 1141 (1951); vgl. diese Z. **141**, 123 (1954).

[8] Analyt. Chemistry **26**, 1297—1302 (1954). Publ. Health Serv., Sanit. Engng. Center, Cincinnati, Ohio (USA).

Stufenhöhe vom p_H-Wert, die Änderung der Diffusionsstromkonstante mit der Konzentration und die Abhängigkeit der Ergebnisse vom gewählten Potential, bei der die Stufe ausgemessen wird, begrenzen die Verwendung der Methode. In Acetatpufferlösung sind die Optimalbedingungen: Bei p_H 4,1 die Stufenhöhe zu messen bei $-0{,}5$ V (gegen die gesättigte Kalomelelektrode) bei Gehalten bis zu 0,3%, bei $-0{,}6$ V bei Gehalten bis zu 3% und bei p_H 6,9 Stufenhöhe bei $-1{,}6$ V bei Gehalten bis zu 0,9%. Die Fehler betragen dann 2,1, 2,1 und etwa 3,0%. K. Cruse.

L. Erdey und F. Szabadváry[1] versetzen die Wasserprobe zur *Bestimmung des gelösten Sauerstoffs* mit Natronlauge und Eisen(II)-ammoniumsulfatlösung und titrieren das durch Oxydation entstandene dreiwertige Eisen mit Ascorbinsäure. Die Analyse wird durch Nitrit gestört. — *Ausführung.* Man füllt eine Flasche von bekanntem Volumen (200—300 ml) mit dem zu untersuchenden Wasser, gibt durch eine Pipette auf den Boden 2 ml Natronlauge (1:2) und 2 ml einer 20%igen Lösung von Mohrschem Salz, die vorher mit Cadmiumpulver in einer Reduktorbürette oder durch Schütteln mit Eisenpulver reduziert wurde. Dann verschließt man die Flasche, schüttelt um und löst das Eisenhydroxyd nach dem Absitzen in 5 ml Salzsäure (2:1) oder in 20 ml 25%iger $NaHSO_3$-Lösung, die man wieder mit einer langstieligen Pipette einführt. Nach Zugabe von 2—3 mg festem Indicatorgemisch [1 Teil 4-Amino-4'-methoxydiphenylamin (Variaminblau)[2] + 9 Teile NaCl] erwärmt man auf 40—50° C und titriert mit 0,01 n Ascorbinsäurelösung bis zum Verschwinden der Violettfärbung. G. Denk.

Die Bestimmung von gelöstem Sauerstoff in nitrithaltigen Wässern mit Chrom(II)-reagens wurde von H. W. Stone und P. Sigal[3] neu untersucht, da sich ergeben hatte, daß das früher von H. W. Stone und R. L. Eichelberger[4] angegebene Differenzverfahren ungenaue Werte liefert. Die Verf. empfehlen jetzt die Oxydation des Nitrits mit Permanganat, Zerstörung des Permanganatüberschusses mit Oxalat und darauffolgende direkte Bestimmung des Sauerstoffs nach dem Chrom(II)-verfahren. Dieses Verfahren selbst wurde auch etwas modifiziert, so daß es nun in Abwesenheit von Nitrit genauere Resultate liefert als die bekannte Winklersche Methode. — *Bestimmung in Abwesenheit von Nitrit.* Aus dem mit Gaszu- und -ableitungsrohr versehenen Titrationsgefäß verdrängt man die Luft, indem man einen sauerstofffreien Stickstoffstrom von 400 ml/min 3 min lang durchleitet. Unter weiterem Stickstoffstrom gibt man einen gemessenen Überschuß an 0,05 m Chrom(II)-reagens (in 0,1 n Salzsäure) und anschließend 50 ml der Untersuchungslösung in das Gefäß. Den Überschuß an Chrom(II)-reagens oxydiert man mit 0,75 ml 0,0035 m Kaliumjodatlösung. Nach Zufügen eines Kaliumjodidkristalls und 0,3 ml 0,5%iger Stärkelösung titriert man den KJO_3-Überschuß mit der 0,05 m Chrom(II)-reagenslösung zurück. Die Gesamtzahl der Chrom(II)-äquivalente minus der KJO_3-Äquivalente ergibt die Zahl der Äquivalente des gelösten Sauerstoffs der Probe. — *Entfernung von Nitrit.* Man versetzt 1 l der Probelösung mit 1 ml konzentrierter Schwefelsäure und so lange mit 0,5 ml Portionen von 0,04 m $KMnO_4$-Lösung bis die Rosafärbung bestehen bleibt. Mit 0,5 ml Portionen von 0,1 m Oxalsäure bringt man die Rosafärbung zum Verschwinden. Ein Überschuß von 1,5 ml 0,1 m Oxalsäure hat keinen Einfluß auf die folgende Bestimmung des gelösten Sauerstoffes mit Chrom(II)-reagens. K. Brodersen.

[1] Acta chim. Acad. Sci. hung. **4**, 325—332 (1954). Techn. Univ. Budapest (Ungarn).

[2] Vgl. L. Erdey und A. Bodor, diese Z. **137**, 410 (1952/53); L. Erdey und Mitarb., vgl. diese Z. **147**, 70, 142 (1955).

[3] Analyt. Chemistry **26**, 1236—1238 (1954). Univ. Los Angeles, Calif. (USA).

[4] Analyt. Chemistry **23**, 868 (1951); vgl. diese Z. **136**, 210 (1952).

O. A. Ohlweiler[1] hat die bereits früher[2] beschriebene, indirekte polarographische *Sulfatbestimmung zur Wasseranalyse* herangezogen. — *Ausführung. Zur Aufnahme der Eichkurven* werden 20 ml 0,5 m Kaliumnitratlösung mit bis zu 30 ml 0,005 m Schwefelsäure versetzt. Nach dem Eindampfen zur Trockne werden die Proben in möglichst wenig Wasser aufgenommen, wieder eingedampft und 30 min auf 120° C gehalten, wobei keine Schwefelsäureverluste eintreten, da eine äqivalente Menge Salpetersäure aus dem Nitrat freigesetzt wird. Man extrahiert mit Wasser, setzt dem Extrakt 10 ml 0,05 m Salpetersäure und 10 ml 0,1%ige Gelatinelösung zu und füllt auf 100 ml auf. 20 ml dieser Lösungen werden nach Zusatz von etwa 100 mg Bleisulfat und Durchlüften mit Stickstoff (30 min) polarographiert. — *Zur Wasseranalyse* wird die Probe zunächst über einen Kationenaustauscher geführt (Amberlite IR 120, 0,01—0,05 ml je min und je ml Austauscher) und 50 ml des Perkolates werden nach Zugabe von 5 ml 0,5 m Kaliumnitratlösung eingedampft, dann genau so wie die Eichproben 30 min auf 120° C gehalten, in 25 ml 0,005 m Salpetersäure, die 0,01% Gelatine enthält, aufgenommen und wie die Eichlösungen weiter behandelt. — Liegt der Sulfatgehalt der Probelösung zwischen 0,5 und $1{,}5 \cdot 10^{-3}$ m, so liegt der Fehler bei höchstens 3%. K. Cruse.

W. M. Shaw[3] empfiehlt eine Abänderung der bekannten Zirkon-Alizarinmethode zur *Fluorbestimmung in Wässern und Bodenextrakten*. Störende Färbungen und Trübungen werden zuvor durch Behandeln mit Calciumsulfat und Entfärbungskohle beseitigt. *Ausführung.* 200 ml Wasserprobe oder Bodenextrakt werden in einem mit Stopfen verschließbaren 250 ml-Erlenmeyer-Kolben mit etwa 0,1 g gepulvertem Calciumsulfat und etwa 0,5 g Aktivkohle 6mal heftig je 30 sec lang mit 10 min Abstand geschüttelt und dann partiell filtriert. 100 ml-Abnahme werden in hohe 100 ml-Becherglaser gegeben. Daneben bereitet man in gleichen Bechergläsern eine Vergleichslösungsreihe mit Fluor-Testlösung (0,221 g NaF/l) von 0,2—2,0 µg F/ml und verdünnt mit Wasser auf 100 ml. Nun gibt man unter Umrühren zu allen Proben und Vergleichslösungen genau 5 ml Zirkon-Alizarinreagens und vergleicht bzw. ordnet die Proben nach 1 Std in die Vergleichslösungsreihe ein. Dies gelingt leicht auf 0,1 µg F ml genau. Sollten die Probelösungen nach 15 min gelb oder grüngelb werden, so müssen sie verworfen und neue Abnahmen in entsprechender Verdünnung hergestellt werden, bis sich diese in die Vergleichslösungsreihe einordnen lassen. — *Reagensherstellung.* Man löst 0,43 g Zirkonoxychlorid-8-Hydrat in 50 ml Wasser, fügt unter Rühren eine Lösung von 0,07 g Alizarinmonosulfonat in 50 ml Wasser zu und trägt langsam unter Rühren eine Mischung von 37 ml konzentrierter Schwefelsäure/500 ml und 112 ml Salzsäure (D 1,19)/500 ml ein, mit der schließlich auf 1 l aufgefüllt wird. Man bewahrt im Eisschrank auf und filtriert jeweils den Tagesbedarf.

Über eine direkte colorimetrische Bestimmung von Chlordioxyd in Wasser durch die spezifische Farbreaktion mit Tyrosin berichten H. W. Hodgden und R. S. Ingols[4]. — Als Reagens werden 300 mg Tyrosin in 100 ml 0,1 n Natronlauge gelöst und mit Wasser, das 97 ml konzentrierte Essigsäure und 150 g Natriumacetat enthält, auf 1 l verdünnt. Der p_H-Wert dieser Reagenspufferlösung soll bei 4,5—4,6 liegen. Als Testlösung wird eine Auflösung von Chlordioxyd in Wasser benutzt, deren Gehalt nach A. T. Palin[5] bestimmt wird. — *Ausführung.* 100 ml Probelösung mit

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 590—593 (1954). Escola de Engenharia, Porto Alegre, R. G. S. (Brasilien).

[2] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **9**, 476 (1953); vgl. diese Z. **144**, 380 (1955).

[3] Analyt. Chemistry **26**, 1212—1214 (1954). Univ. Knoxville, Tenn. (USA).

[4] Analyt. Chemistry **26**, 1224—1226 (1954). Inst. Technol., Atlanta, Ga. (USA).

[5] J. Instn. Water Engr. **3**, 100 (1949).

maximal 2,5 μg ClO_2/ml werden mit 2 ml Reagenspufferlösung versetzt und die rote Färbung innerhalb von 8–10 min (20° C) in 150 mm-Küvetten und bei 490 mμ gemessen, oder gegen eine Kobaltnitratstandardlösung mit 140 μg ml (das entspricht 0,1 μg ClO_2/ml) verglichen. Unterchlorige Säure, Chloramin und Mangan stören die Bestimmung nicht. Der Analysenfehler wird mit 2—3% angegeben. H. Pohl.

Der Gehalt an organischer Substanz in Abwässern kann nach einer von R. Kieselbach[1] entwickelten Methode und konstruierten Apparatur *kontinuierlich registriert* werden. Konzentrationsänderungen, die 1 μg ml Kohlenstoff entsprechen, werden bereits angezeigt. Die erste Anzeige erfolgt 10 min nach der Änderung der Zusammensetzung der Probe, 67% der Änderung werden in weiteren 4 min registriert. — *Ausführung.* Von dem dem Gerät durch eine Pumpe zugeführten, filtrierten Abwasser wird ein Teil abgezweigt und gelangt mit der Geschwindigkeit 40 ml/min in einen Mischer, der mit einer Zuleitung für alkalische Bariumhydroxydlösung (2 ml/min) verbunden ist. Gelöstes Kohlendioxyd und Carbonate werden so beseitigt. Der Hauptanteil an Wasser wird mit dem Niederschlag verworfen. Ein kleiner Teil wird abgemessen, filtriert und in einen anderen Mischer gepumpt (0,2 ml/min), dem Chromschwefelsäuregemisch (2 ml/min) zugeführt wird. Das Gemisch wird im Reaktionsgefäß 2,5 min lang auf 250° C erhitzt. Das heiße Reaktionsgemisch wird in einem kleinen zylindrischen Gefäß filmartig verteilt und durch eine gemessene Menge Sauerstoff vom entstandenen Kohlendioxyd befreit. Chlor, das bei der Oxydation aus Chloriden frei wird, entfernt ein Antimonwäscher aus dem Gasstrom. Wasserdampf wird durch Drierite absorbiert. Das gereinigte Gas gelangt nun in eine Seite eines Differentialwärmeleitfähigkeitsanalysators, es wird mittels Ascarit vom Kohlendioxyd befreit und strömt so durch die Vergleichszelle des Analysators. Der Gehalt an organisch gebundenem Kohlenstoff wird in Abhängigkeit von der Differentialwärmeleitfähigkeit gemessen. Das Gerät, dessen konstruktive Einzelheiten und chemische Arbeitsweise dem Original entnommen werden müssen, ist für Abwässer von geringen Konzentrationen an organischer Substanz vorgesehen, läßt sich aber für speziellere Zwecke modifizieren. H. Freytag.

Die Bestimmung von Phenolen und Pyridin im Gaswasser auf UV-spektrophotometrischem Wege wird nach I. Trummer[2] in der Weise durchgeführt, daß man zuerst durch Wasserdampfdestillation die Monophenole und Pyridin von den Diphenolen trennt. In einem Teil des Destillates mißt man die Lichtabsorption bei 256,5 mμ. Aus einem zweiten Teil des Destillates vertreibt man nach Zugabe von Natriumhydroxyd aus der bis 70° C erwärmten Lösung mittels warmen Stickstoffstroms das Pyridin und mißt dann bei den Wellenlängen 256,5 und 290 mμ. Die Absorption bei 290 mμ rührt nur von den Monophenolen her, da Pyridin bei dieser Wellenlänge durchlässig ist. Man berechnet g/l Monophenol $= E_{290} \cdot h \cdot 1/k_f$, worin k_f den spez. Absorptionskoeffizienten der Monophenole und h die Verdünnung der Lösung bedeuten. g/l Pyridin $= (E_{256,5\,II} - E_{256,5\,I}) \cdot h \cdot 1/k_p$ (k_p ist der spez. Absorptionskoeffizient des Pyridins). Die Bestimmung der Diphenole im Destillationsrückstand kann nach Ansäuern auf 0,1 n ebenfalls spektrophotometrisch durchgeführt werden. J. Plank.

Die Bestimmung von Brenzcatechin in industriellen Abwässern und in phenolischen Produkten läßt sich nach J. Janák[3] colorimetrisch auf Grund der Farbreaktion mit dem Äthylaminsalz der Molybdänsäure durchführen. Das Äthylamin-

[1] Analyt. Chemistry **26**, 1312—1318 (1954). E. I. du Pont de Nemours & Co., Inc. Wilmington, Del. (USA).

[2] Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 307—311 (1954) [Ungarisch]. (M. engl. Zus.fass.) Zentralforsch. Inst. f. Physik, Budapest.

[3] Chem. Listy **48**, 1171—1175 (1954) [Tschechisch]. Stalinwerke, Záluží (ČSR).

salz wurde deshalb gewählt, weil es mit Brenzcatechin eine beständigere Gelborangefarbe gibt als andere Molybdate (Ammonium-, Di-, Triäthylamin, Mono-, Triäthanolamin, Äthylendiamin). In Methanollösung ist die Farbintensität stärker und die Farbe beständiger als in wäßriger Lösung. Zugabe von Ammoniumformiat erhöht die Stabilität weiter, so daß man, ohne Fehler zu begehen, die optische Dichte nach 5- oder erst 10 min messen kann. Für die quantitative Bestimmung ist ein ausreichender Molybdatüberschuß notwendig. Die Menge Wasser in der Lösung muß stets gleichgehalten werden. Die (nicht geraden) Eichkurven fallen für die Brenzcatechinhomologen (4-Methyl- und 3-Methylbrenzcatechin) zusammen, die Brenzcatechinkurve selbst weicht um 7—9% ab. Der Analysenfehler beträgt im Mittel ± 2,2%. — *Ausführung.* Von dem von groben Verunreinigungen (Ölemulsionen, harzartigen Stoffen) abfiltrierten Wasser nimmt man eine 60—80 mg Brenzcatechin und Homologen entsprechende Menge und fällt bei 60° C und p_H 6—7 mit einer 10%igen Bleiacetatlösung (p_H nicht niedriger als 5,7). Der abfiltrierte Niederschlag wird mit n Schwefelsäure zerlegt und die Lösung von $PbSO_4$ abfiltriert. Ein 1—4 mg Brenzcatechin entsprechender aliquoter Teil der Lösung wird mit Wasser auf ein bestimmtes Volumen (10 ml) verdünnt, mit 5 ml einer Lösung von 5 g Ammoniumformiat in 100 ml wasserfreiem Methanol versetzt und mit Methanol auf 50 ml aufgefüllt. Nach Zugabe von 1 ml Molybdatreagens (siehe unten) und Mischen läßt man 3—5 min stehen und liest dann die Lichtabsorption im Lange-Colorimeter mit Filter GB 5 (maximale Durchlässigkeit 435 mμ) ab. Die Eichkurve wird unter den gleichen Bedingungen aufgestellt. — *Molybdatreagens.* Aus 13,2 g Äthylaminhydrochlorid wird die Base durch Zugabe der äquivalenten Menge Ammoniak freigemacht. Dann verdünnt man etwas mit Wasser und löst 4,4 g gepulverte Molybdänsäure in der Flüssigkeit. Nach Abscheidung dekantiert man, ergänzt mit Wasser auf 100 ml und bewahrt in brauner Flasche auf.

Die Bestimmung von Resorcin in industriellen Abwässern und technischen phenolischen Produkten gelingt nach J. Janák und L. Matoušek[1] auf Grund der Reaktion mit Jod in Gegenwart eines Überschusses von Brenzcatechin[2]. Es entsteht ein dunkelvioletter Niederschlag, der sich in Aceton leicht zu einer hellvioletten Lösung löst, deren Farbintensität gemessen wird. Es besteht lineare Abhängigkeit zwischen dem Resorcingehalt und der Lichtabsorption der Lösung. Der violette Körper, dessen Zusammensetzung nicht bekannt ist, entsteht nur in Anwesenheit von Brenzcatechin. — *Ausführung. Phenolhaltige Wässer.* Von dem durch Filtrieren von emulgierten Ölen und suspendierten Stoffen befreiten Wasser bringt man 25 ml mit n Schwefelsäure auf p_H 6—7, versetzt mit 15 ml 10%iger Bleiacetatlösung, filtriert über Asbest und gibt 1—2 g gepulvertes Natriumsulfat zum Filtrat. Der $PbSO_4$-Niederschlag wird wieder abfiltriert. Von dem auf ein passendes Volumen gebrachten neuen Filtrat wird ein 50—200 μg Resorcin enthaltender aliquoter Teil mit 2,5 ml 0,2%iger wäßriger Brenzcatechinlösung versetzt, auf genau 10 ml verdünnt und mit 10 ml Acetatpuffer von p_H 5,7 versetzt (30 ml Eisessig + 75 ml 25%ige Natronlauge im Liter; auf p_H 5,7 eingestellt). Hierauf läßt man rasch 15 ml 0,1 n Jodlösung zufließen, entfernt nach genau 1 min den Jodüberschuß mit 15 ml 0,1 n Thiosulfatlösung und fügt 50 ml Aceton zu. Nach dem Schütteln wird die rotviolette Farbe *sofort* mit Grünfilter (520 mμ) gemessen (die Farbe verblaßt alsbald). Der Resorcingehalt wird einer unter gleichen Bedingungen aufgestellten Eichkurve entnommen. — *Phenolische Produkte.* Man löst 5—10 g Probe in wenig Methanol, ergänzt mit Wasser auf 250 oder 500 ml und filtriert über Asbest. 25 ml des Filtrates füllt man wieder auf 250—500 ml auf und benutzt 2—5 ml zur Bestimmung. A. Kurtenacker.

[1] Chem. Listy **48**, 1176—1180 (1954) [Tschechisch]. Stalinwerke, Záluží (ČSR).

[2] Vgl. H. H. Willard und A. L. Wooten, Analyt. Chemistry **22**, 585, 670 (1950); vgl. diese Z. **132**, 201 (1951).

Die Berylliumbestimmung in Bronzen unter Anwendung eines Kationenaustauschers beschreiben D. I. Rjabčikov und V. E. Buchtiarov[1]. Man kann zwar, wie Versuche erwiesen, Beryllium von Aluminium und Eisen dadurch trennen, daß man die schwach sauren Lösungen dieser 3 Metalle durch ein Kationit (SBS) hindurchläßt, dann das absorbierte Aluminium und Eisen mit einer 2%igen Oxalsäurelösung extrahiert, endlich das durch Oxalsäure ungelöst gebliebene Be mit 10%iger Salzsäure auszieht und gesondert (mit Ammoniak) fällt. Jedoch geht es rascher, wenn man die fertigen Oxalate durch das Kationit sendet, wobei Fe- und Al-Oxalat passieren, Be-Oxalat jedoch unter Zurückbleiben des Be zersetzt wird. Die Trennung erfolgt befriedigend. — Bei einer Be-Bronze (Cu, Be) werden 0,5 g der Legierung in 25 ml 30%iger Salpetersäure unter Erwärmen gelöst, sodann wird Cu elektrolytisch abgeschieden. Die Cu-freie Lösung wird bei 70° C mit Ammoniak bis zum schwachen Geruch versetzt und nach 10 min filtriert. Die Hydroxyde (Al, Be, Fe) werden 4mal mit heißer 2%iger NH_4NO_3-Lösung gewaschen, in 20%iger heißer Salzsäure gelöst, bis auf 1 ml eingedampft und nach dem Abkühlen mit 25 ml Wasser verdünnt. Nach Zufügen von 40 ml 2%iger Oxalsäurelösung sowie 2 Tr. Methylorangelösung wird tropfenweise mit Ammoniak bis zum Farbumschlag auf Gelb neutralisiert. Diese Lösung wird durch das Säulchen (in H-Form) mit 2 ml/min Geschwindigkeit hindurchgeleitet; man wäscht mit Wasser (5—7 ml/min) nach bis die Fe-Reaktion mit KSCN im Eluat ausbleibt. Al + Fe werden in der Lösung wie üblich getrennt. Das im Säulchen zurückgebliebene Be wird aus dem Kationit mit 10%iger Salzsäure extrahiert (4—5 ml/min), die volle Extraktion erfordert 250 ml Säure. Aus diesem Filtrat wird das Beryllium mit Ammoniak bei 70° C gefällt, filtriert, mit NH_4NO_3-Lösung gewaschen, bei 1000° C geglüht und als BeO gewogen. Die Trennung von Fe und Al ist befriedigend. A. v. Wilpert.

Die lösungsspektralanalytische Bestimmung von Zink in Messing sowie die Analyse anderer Legierungen unter Verwendung poröser Graphitelektroden[2] (porous-cup method) wird von L. G. Young, J. M. Berriman und B. E. J. Spreadborough[3] mit einem Hilger-Medium-Spektographen vorgenommen. — *Arbeitsweise.* 1,00 g der Messingbohrspäne werden in einem Gemisch von je 10 ml konzentrierter Salz- und Salpetersäure gelöst und die Lösung mit Wasser auf 100 ml verdünnt. Davon werden 0,1 ml auf die vorbereitete Graphitelektrode gebracht und bei einer Spaltbreite von 0,01 mm 60 sec lang abgefunkt (Maximalspannung 15000 V, Kapazität 0,005 μF). Zur Auswertung gelangen die Linien Zn 2502,0 Å und Cu 2544,8 Å. Die Streuung der Zn-Werte beträgt 0,71%, die Maximalabweichung einer Bestimmung 1,9% Zn. — Nach Erfahrungen der Verff. lassen sich ferner 0,001—0,3% *Mg in Eisen*, 0,10—20% *Al in Kupfer* und 5—95% *Al in Magnesium-Aluminiumlegierungen* nach der "porous-cup method" mit befriedigender Genauigkeit bestimmen. Für die Analyse kleiner Mengen von Rückständen, Fällungen und Korrosionsprodukten, die nur wenige Elemente mit nicht zu linienreichen Spektren enthalten, bewährt sich ein Zusatz von 1 mg Gold je 0,1 ml Analysenlösung als „innerer Standard". Eine vorhergehende chemische Abtrennung störender Bestandteile erweist sich dabei oft als vorteilhaft. H. Zettler.

Für die flammenphotometrische Bestimmung von Indium in Legierungen mit 85% Kupfer, 11% Aluminium und 0,5—2,5% Indium verwenden V. W. Meloche,

[1] Ž. anal. Chim. **9**, 196—198 (1954) [Russisch].

[2] Vgl. C. Feldman, Analyt. Chemistry **21**, 1041, 1211 (1949); vgl. diese Z. **132**, 112, 118, 357 (1951).

[3] Analyst (London) **79**, 551—561 (1954). Admiralty Materials Lab., Holton Heath, Poole, Dorset (England).

J. B. Ramsay, D. J. Mack und T. V. Philip[1] ein modifiziertes Beckman-Flammenphotometer mit einem Elektronenvervielfacher als Strahlungsempfänger. Die Herstellung der Analysenlösung erfolgt durch Auflösen von 0,1000 g der Legierung in Salpetersäure und Auffüllen auf 100 ml. Für die Messung eignet sich die Indiumlinie 451,1 mμ; mit der Wasserstoff-Sauerstoffflamme sind noch 0,2 ppm. (Teile je Million) Indium nachweisbar. Bis zu 100 ppm. Indium können mit einer Genauigkeit von $\pm$ 0,1% des In-Gehaltes bestimmt werden. Der Einfluß von Kupfer und Aluminium auf die Emissionsintensität der In-Linie wird durch Verwendung Cu- und Al-haltiger Eichlösungen in bekannter Weise kompensiert. Zink (bis zu 100 ppm.) und Salpetersäure (bis zu 1 n) üben keinen Einfluß auf die In-Emission aus. H. Zettler.

Die Bleibestimmung in metallischen Produkten gründen J. Kinnunen und B. Wennerstrand[2] auf die Tatsache, daß in stark ammoniakalischer Cyanidlösung lediglich Blei- und Wismutdiäthyldithiocarbaminat mit Äthylacetat bzw. Chloroform extrahierbar sind. Das auf diese Weise isolierte Blei wird dann nach entsprechender Vorbehandlung durch eine Titration mit Äthylendiamintetraessigsäurelösung (Komplexon, EDTA) erfaßt. Das Verfahren gibt genaue Resultate. Da der bei den konventionellen Methoden durch die Löslichkeit vom Bleisulfat verursachte Fehler hier vermieden wird, werden gegenüber der Abtrennung als $PbSO_4$ höhere Werte gefunden. — *Bleibestimmung in Messing und Bronze.* 1 g des zu untersuchenden Metalles wird in 8 ml Salpetersäure (1:1) gelöst; bei Anwesenheit von Zinn werden 5 Tropfen Salzsäure zugegeben. Nach dem Verkochen der nitrosen Gase kühlt man ab, spült in einen Scheidetrichter über und setzt folgende Lösungen zu: 5 ml 20%ige, wäßrige Seignettesalzlösung, 10 ml konz. Ammoniak, 30 ml 20%ige Kaliumcyanidlösung und 10 ml 2%ige Natriumdiäthyldithiocarbaminatlösung. Anschließend extrahiert man mit 10 und 2mal mit 5 ml Chloroform, wobei die Lösungsmittelschicht jedesmal in ein 400 ml-Becherglas abgezogen wird. Die vereinigten Extrakte werden mit 5 ml Salpetersäure versetzt und erhitzt, bis das Chloroform verdampft ist. Nach Zusatz von 2 ml Seignettesalzlösung wird der Überschuß an Säure mit Ammoniak neutralisiert und nach Zugabe von 10 ml Pufferlösung (54 g NH_4Cl, 350 ml konz. Ammionaklösung mit Wasser auf 1000 ml verdünnen) auf etwa 125 ml verdünnt. Anschließend werden 3 ml KCN-Lösung zugesetzt und unter Verwendung von Eriochromschwarz T mit 0,01 n EDTA-Lösung titriert. Die Störung durch anwesendes Mangan wird durch Zusatz von 4 g KCN vor Ausführung der Titration herabgedrückt. — *Arbeitsmethode für Bleikonzentrate.* 0,5 g des Konzentrates werden mit 2—3 Tropfen Brom und 5 ml Salpetersäure gelöst. Nach der Verdünnung mit Wasser werden 1 g Weinsäure, 20 ml 20%ige Ammoniaklösung, 20 ml 20%ige KCN-Lösung und anschließend solange Natriumdiäthyldithiocarbaminatlösung zugesetzt, bis vollständige Ausfällung erreicht ist. Es folgt die Extraktion mit 15 und 2mal 5 ml Chloroform. Die vereinigten Extrakte werden nach dem Zusatz von 25 ml Wasser und 10 ml Salpetersäure erhitzt; ist das Chloroform verdampft, so setzt man 20 g Ammoniumacetat zu, neutralisiert die überschüssige Säure mit Ammoniak, gibt 5 ml Ammoniak im Überschuß zu und titriert wie bereits beschrieben mit 0,05 n EDTA-Lösung. Wurde die zu untersuchende Probe mit Schwefelsäure abgeraucht, so kann das abfiltrierte $PbSO_4$ ebenfalls mit EDTA-Lösung titriert werden. — *Arbeitsvorschrift für Bariumerz.* Etwa 1 g der Probe wird wie bei der Untersuchung von Bleikonzentraten beschrieben, gelöst. Die auf ein kleines Volumen eingedampfte Lösung wird auf etwa 40 ml verdünnt, 4 g EDTA

[1] Analyt. Chemistry **26**, 1387—1388 (1954). Univ. Madison, Wis. (USA).
[2] Chemist-Analyst **43**, 65—67 (1954). Metalworks, Pori, Finnland.

(freie Säure) werden zugesetzt, dann wird solange Ammoniak zugegeben, bis sich die Lösung braun färbt und $BaSO_4$ und $PbSO_4$ in Lösung gegangen sind. Nach Zusatz von 2—3 Tropfen Bromkresolgrün gibt man solange Salzsäure zu, bis der Indicator nach Grünbraun (p_H 3) umschlägt. Daran anschließend erfolgt die Extraktion und die Bestimmung des Bleis wie oben beschrieben. H. Schmidt, Wiesbaden.

Polarographische Bestimmung von Zink in Gold. Nach einer von S. B. Deal[1] angegebenen Vorschrift zur Routineanalyse des Zinkgehalts von 0,001 bis 1% in Gold wird 1 g der Probe in 20 ml eines Salpetersäure-Salzsäuregemischs (1:3) gelöst, eingedampft und in etwa 50 ml Wasser aufgenommen. Man setzt 1 ml konz. Salzsäure und 25 ml mit Schwefeldioxyd gesättigtes Wasser zu, rührt gut um und beläßt zur Goldfällung 1 Std und nach Zugabe weiterer 10 ml der SO_2-Lösung noch weitere 5 min auf dem Dampfbad. Die Lösung wird dann auf 100 ml aufgefüllt; nach Absetzen des Goldes werden 50 ml entnommen und mit 4 m Ammoniak-Ammoniumchloridlösung, die 5 ml Methylrot-Bromkresolgrünlösung (0,2%ig im Verhältnis 3:2) im Liter enthält, auf 100 ml aufgefüllt. Der Sauerstoff dieser Lösung wird mit Stickstoff vertrieben und unter Sauerstoffabschluß wird zwischen 0,9 und 1,65 V gegen die Bodenelektrode polarographiert. Mit Blindproben und Eichaufnahmen sind Analysen in üblicher Genauigkeit möglich. K. Cruse.

Zur komplexometrischen Bestimmung des Zinks in Aluminiumlegierungen fällt J. C. Sergeant[2] zunächst mit Sulfid-Ionen bei p_H 5—7 und titriert nach dem Auflösen mit einer Lösung des Dinatriumsalzes der Äthylendiamintetraessigsäure (KomplexonIII) gegen Eriochromschwarz T. Die gesamte Bestimmung kann in 20—25 min durchgeführt werden. — *Ausführung.* Je nach dem Zinkgehalt löst man 0,25—2 g der Legierung in Salpeter- und Salzsäure, verdünnt auf 50—60 ml, versetzt mit Weinsäure (3 g für je 0,5 g Einwaage), um Aluminium in Lösung zu halten, und neutralisiert mit Ammoniak gegen Methylrot. Dann säuert man mit 10%iger Salpetersäure an und gibt eine Lösung, die Na_2CO_3 und Na_2S enthält, hinzu (50 g Soda + 100 g Natriumsulfid zum Liter gelöst). Der p_H-Wert soll nun 5—7 betragen (Indicatorpapier). Man erhitzt zum Sieden, filtriert, wäscht mit einer verdünnten Lösung von Na_2CO_3 + Na_2S (2 ml der Fällungslösung auf 100 ml verdünnt), löst den Niederschlag mit 15 ml heißer Salzsäure (1:1) vom Filter und wäscht mit heißem Wasser nach. Zur Lösung setzt man 2 g Ammoniumchlorid und Bromwasser bis zur Gelbfärbung zu, kocht, macht schwach ammoniakalisch, filtriert vom ausgeschiedenen Eisen- und Aluminiumhydroxyd ab und wäscht mit Ammoniumchloridlösung (1—2 g in 100 ml). Die Lösung wird mit 5 ml Ammoniak, 4 ml 20%iger KCN-Lösung (um Cu und Ni zu maskieren), 9—11 Tropfen einer Lösung von Eriochromschwarz T und 10 ml 50%igem Formaldehyd versetzt und mit 0,05 n Komplexonlösung bis zum Umschlag nach Hellblau oder Grünlich titriert. Wird die Lösung schon vor der Zugabe von Formaldehyd rot, so sind noch einige störende Elemente, z. B. Blei, vorhanden. Man fügt dann 2 ml KCN-Lösung hinzu, titriert mit Komplexonlösung bis zur Blaufärbung, versetzt mit 12 ml Formaldehyd und titriert jetzt das Zink unter nochmaliger Zugabe von 2—3 ml Formaldehyd. — Die Indicatorlösung wird erhalten aus 0,5 g Eriochromschwarz T, 3 g Hydroxylammoniumchlorid und 100 ml Äthanol. G. Denk.

---

[1] Analyt. Chemistry **26**, 1459—1460 (1954). Radio Corp. of America, Lancaster. Pa.

[2] Metallurgia (Manchester) **50**, 252—254 (1954). Univ. Birmingham (England).